

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Facultad de Medicina



TESIS DOCTORAL

**Influencia de los factores de riesgo y del
tratamiento con inhibidores de la bomba
de protones sobre el pronóstico del
paciente coronario.**

Ana María Pello Lázaro

Directores: José Tuñón Fernández y
Carmen Cristóbal Varela

Madrid, 2017

Resumen

Introducción:

El papel que los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) clásicos tienen en el desarrollo de la enfermedad coronaria está bien establecido a día de hoy. Sin embargo sabemos que dichos factores no explican el 100% de la enfermedad y que hay un pequeño grupo de pacientes con enfermedad coronaria que no tienen ningún FRCV. Desconocemos, además, si hay alguna diferencia en el perfil de biomarcadores de inflamación y de metabolismo mineral así como en el pronóstico de los pacientes con y sin factores de riesgo coronario clásicos.

Por otro lado, uno de los grupos farmacológicos más utilizados en las últimas décadas, sobre todo en pacientes tratados con antiagregación, son los inhibidores de la bomba de protones (IBP). Hay datos discordantes en la literatura sobre si el tratamiento crónico con dichos fármacos influye en el pronóstico cardiovascular de los pacientes con enfermedad coronaria.

Objetivos:

Estudiar una población de pacientes con enfermedad coronaria crónica para analizar si hay diferencias en el perfil de biomarcadores de inflamación y del metabolismo mineral entre los pacientes que presentan FRCV y aquellos que no los tienen y si estas diferencias se traducen en un pronóstico diferente a medio plazo. Analizar si el tratamiento crónico con los IBP se asocia con la aparición de eventos adversos en estos pacientes, entre ellos los eventos isquémicos agudos.

Material y métodos:

Se trata de un estudio de cohortes observacional y prospectivo. Esta Tesis consta de dos subestudios.

El primero de ellos incluyó a 704 pacientes con cardiopatía isquémica crónica con y sin FRCV. Se analizaron los niveles plasmáticos de biomarcadores de inflamación y del metabolismo mineral [proteína C reactiva de alta sensibilidad

(hs PCR), proteína quimioattractante de los monocitos-1 (MCP-1), galectina-3, Prohormona N- terminal del péptido natriurético cerebral (NT-ProBNP), calcidiol, Factor de crecimiento de los fibroblastos 23 (FGF23), paratohormona (PTH) y fosfato] para ver posibles diferencias de dichos biomarcadores entre ambas cohortes de pacientes y estudiar si dichas diferencias influyen en el número de eventos adversos: eventos isquémicos agudos (síndrome coronario agudo, ictus o accidente isquémico transitorio), muerte de cualquier causa o insuficiencia cardiaca.

En el segundo subestudio se incluyeron 706 pacientes con cardiopatía isquémica crónica, de los cuales 431 estaban siendo tratados con IBP. Se analizó si el tratamiento crónico con dichos fármacos era un predictor independiente del objetivo principal compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardiaca o muerte.

Resultados:

En el primer subestudio, 20 pacientes (2,8%) no presentaban ningún FRCV clásico. No hubo diferencias entre ambos grupos en las variables clínicas estudiadas con la excepción lógica de que el grupo sin FRCV tenía niveles más bajos de glucosa y triglicéridos y más altos de cifras de colesterol HDL, y que el uso de antidiabéticos orales era más frecuente en la cohorte de pacientes que presentaba algún FRCV. El grupo de pacientes sin FRCV tenía niveles de hs-PCR, MCP-1 y FGF23 inferiores ($2,57 \pm 3,12$ mg/L vs. $4,55 \pm 9,79$ mg/L; $p=0,018$ para la hs-PCR, $114,75 \pm 36,29$ pg/ml vs. $143,56 \pm 65,37$ pg/ml; $p=0,003$ para MCP-1 y $79,28 \pm 40,22$ RU/ml vs. $105,17 \pm 156,61$ RU/ml; $p=0,024$ para FGF23), mientras que los niveles plasmáticos de calcidiol fueron más altos en dicho grupo ($23,66 \pm 9,12$ ng/ml vs. $19,49 \pm 8,18$ ng/ml; $p=0,025$). No hubo diferencias significativas entre ambos grupos en las curvas de supervivencia libre de eventos ($p=0,816$ prueba de log-rank). Además, los FRCV no fueron predictores independientes de eventos adversos, sin embargo, los niveles bajos de calcidiol y elevados de MCP-1 y FGF23 sí lo fueron.

En el segundo subestudio, los pacientes que estaban recibiendo tratamiento con IBP eran mayores [$62,0$ ($53,0-73,0$) vs. $58,0$ ($50,0-70,0$) años; $p=0,003$] y tenían más eventos cerebrovasculares entre sus antecedentes que los pacientes que

no tomaban IBP (4,9% vs. 1,1%; $p=0,004$). Un total de 78 pacientes desarrollaron el objetivo principal de nuestro estudio compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte. Cincuenta y tres pacientes sufrieron un evento isquémico agudo y 33 fallecieron o presentaron un episodio de insuficiencia cardíaca, recogándose estos datos como objetivo secundario de nuestro trabajo. El tratamiento con IBP fue predictor independiente del objetivo primario combinado de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte con un *Hazard ratio* (HR) de 2,28 (Intervalo de confianza (IC) 95%: 1,24-4,18; $p=0,008$) y del objetivo secundario de insuficiencia cardíaca o muerte con un HR de 5,71 (IC 95%: 1,63-20,05; $p=0,007$). Sin embargo no lo fue al analizar los eventos isquémicos agudos de manera aislada. El análisis posterior realizado con *propensity score* mostró resultados similares.

Conclusión:

Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan FRCV tienen un perfil de biomarcadores de inflamación y del metabolismo mineral más favorable que los que sí los presentan. Los niveles bajos de calcidiol y elevados de MCP-1 y FGF23 son predictores independientes de eventos adversos. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos en las curvas de supervivencia libre de eventos.

En pacientes con cardiopatía isquémica crónica, el tratamiento con IBP se asocia de manera independiente con el aumento del objetivo primario combinado de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte a expensas fundamentalmente de la insuficiencia cardíaca y la muerte.

Agradecimientos

En primer lugar a Juan, mi marido, por su ayuda diaria, su apoyo incondicional y la paciencia infinita que ha tenido conmigo durante esas largas horas empleadas en la elaboración de esta Tesis doctoral. Gracias también a mis pequeños Isabel, Rubén y Cristina que hacen que, a pesar de todo, cada día siga siendo un gran día. Quiero disculparme con ellos por tantas horas que no he podido dedicarles porque estaba trabajando para sacar adelante esta Tesis. Soy consciente de que me he perdido parte de sus risas y de sus juegos y por esto les pido nuevamente perdón.

A mis padres, a mi hermano David y al resto de mi familia, por su cariño, por todos los sacrificios realizados y por haberme enseñado que nada se consigue sin esfuerzo y dedicación.

A mis directores de Tesis, el Dr. José Tuñón y la Dra. Carmen Cristóbal, por sus sabios consejos y su orientación a la hora de realizar esta tesis, pues sin ellos no habría podido realizarla.

Gracias nuevamente al Dr. Tuñón por encontrar siempre unos minutos para escucharme. Gracias por tu completa y sincera disposición. Siempre estaré en deuda contigo por haber sabido enseñarme poco a poco el interés por la investigación, por haberme permitido trabajar con tu grupo, por aceptarme y considerarme como una compañera más.

A todos y cada uno de mis compañeros del Servicio de Cardiología de la Fundación Jiménez Díaz. De ellos he podido aprender cada día una cosa nueva, tanto desde el punto de vista científico como humano.

Al Dr. Jerónimo Farré, por la oportunidad que me dio hace ya casi 8 años de empezar a trabajar en el Servicio de Cardiología que el dirige y permitirme así continuar formándome como cardióloga y como persona.

Muchas gracias a todos.

*A mi marido Juan y a
mis tres hijos Isabel, Rubén
y Cristina.
Os quiero*

Índice:

	Página
<i>Abreviaturas</i>	13
<i>Introducción</i>	15
1. Epidemiología de la aterosclerosis y magnitud del problema	15
1.1. Prevalencia de la aterosclerosis	15
1.2. Incidencia de la aterosclerosis	17
1.3. Pronóstico de la aterosclerosis	18
1.4. Impacto económico de la aterosclerosis y costes asociados	21
2. Fisiopatología de la aterosclerosis	22
2.1. Formación de la placa aterosclerótica	23
2.1.1. Distribución selectiva de las lesiones	23
2.1.2. Disfunción endotelial	23
2.1.3. Reclutamiento celular	25
2.1.3.1. Acumulación de LDL, estrés oxidativo y factores de transcripción	25
2.1.3.2. Moléculas de adhesión y quimioattractantes	26
2.1.4. Formación de la cápsula fibrosa	28
2.2. Complicación de la placa aterosclerótica	30
2.2.1. Ruptura de la cápsula fibrosa	31
2.2.2. Inflamación	33
2.2.3. Apoptosis	35
2.2.4. Infección	35
2.2.5. Trombosis sin ruptura de placa	36
3. Factores de riesgo coronario	37
3.1. Definición de factor de riesgo e historia de su aparición	37
3.2. Factores de riesgo cardiovascular establecidos	39
3.2.1. Hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia	40
3.2.2. Hipertensión arterial	41
3.2.3. Tabaquismo	41
3.2.4. Sexo masculino	42
3.2.5. Historia familiar y marcadores genéticos	42
3.2.6. Diabetes Mellitus	43
3.2.7. Obesidad	43
3.2.8. Sedentarismo	44
3.3. Nuevos marcadores biológicos de riesgo cardiovascular	44
3.3.1. Proteína C Reactiva	44
3.3.2. MCP-1	47
3.3.3. Péptidos natriuréticos: BNP y NT-ProBNP	47
3.3.4. Biomarcadores del metabolismo mineral: Vitamina D y FGF-23	48
4. Inhibidores de la bomba de protones y riesgo cardiovascular	52

4.1. Mecanismo de acción de los inhibidores de la bomba de protones y prevalencia de su uso	52
4.2. Importancia del tratamiento antiagregante en pacientes con enfermedad coronaria	53
4.3. Mecanismo y riesgo de complicaciones gastrointestinales relacionadas con la antiagregación	54
4.4. Estrategias de prevención del riesgo de sangrado gastrointestinal asociado a la antiagregación	56
4.5. Efectos adversos y riesgo cardiovascular de los inhibidores de la bomba de protones	58
5. Recapitulación	64
<i>Hipótesis</i>	65
<i>Objetivos</i>	67
<i>Material y Métodos</i>	69
1. Tipo de estudio	69
2. Población de estudio	69
2.1. Estudios BACS & BAMÍ	69
2.2. Pacientes analizados para estudio de biomarcadores e inhibidores de la bomba de protones	70
3. Declaración ética	71
4. Estudios analíticos y biomarcadores empleados	71
5. Variables estudiadas	72
5.1. Variables demográficas	72
5.2. Factores de riesgo cardiovascular clásicos	72
5.3. Coexistencia de otras enfermedades o antecedentes de historia familiar de aterosclerosis	73
5.4. Características y severidad de la cardiopatía	73
5.5. Tratamientos farmacológicos	74
5.6. Variables de laboratorio	74
5.7. Biomarcadores	74
5.8. Variables resultado	74
6. Análisis estadístico	75
<i>Resultados</i>	79
1. Análisis de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función de la presencia o ausencia de factores de riesgo cardiovascular	79
1.1. Características basales de la población	79
1.2. Datos del seguimiento	81
1.3. Análisis de supervivencia libre de eventos	82
2. Análisis de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función del tratamiento con inhibidores de la bomba de protones	84

2.1. Características basales de la población	84
2.2. Datos del seguimiento	84
2.3. Análisis de supervivencia libre de eventos	87
2.3.1. Análisis de Cox multivariado	87
2.3.2. Análisis con propensity score	89

<i>Discusión</i>	91
-------------------------	----

1. Subestudio de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función de los factores de riesgo cardiovascular	91
1.1. Limitaciones	97
2. Subestudio de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función del tratamiento con inhibidores de la bomba de protones	99
2.1. Limitaciones	105

<i>Conclusiones</i>	107
----------------------------	-----

<i>Bibliografía</i>	109
----------------------------	-----

<i>Anexo: Publicaciones derivadas de esta Tesis doctoral</i>	151
---	-----

Abreviaturas

AAS: Ácido acetilsalicílico o aspirina
AINES: Antinflamatorios no esteroideos
ANG II: Angiotensina II
ARA II: Antagonistas del receptor de la angiotensina II
ARH₂: Antagonistas de los receptores de histamina H₂
ATPasa H⁺/K⁺: Adenosin trifosfatasa sodio/potasio
BACS: *Biomarkers in Acute Coronary Syndrome*
BAMI: *Biomarkers in Acute Myocardial Infarction*
BNP: Péptido natriurético tipo B o cerebral
CAPRIE: *Clopidogrel Versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events*
CARE: *Cholesterol And Recurrent Events*
CE: Células endoteliales
CHARISMA: *Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance*
CKD-EPI: *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*
CML: Células Musculares Lisas
COX-1: Cicloxigenasa 1
COX-2: Cicloxigenasa 2
CTGF: *Connective tissue growth factor*
CURE: *Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events*
ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico
E-sel: Selectina E
EVP: Enfermedad vascular periférica
FDA: *Food and Drug Administration* (Agencia de administración de alimentos y medicamentos)
FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos
FGF23: Factor de crecimiento de fibroblastos 23
FRCV: Factores de riesgo cardiovascular
FT: Factores de transcripción
GI: Gastrointestinal
GMC-SF: *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*
HCl: Ácido clorhídrico
HDL: *High density lipoprotein* (lipoproteínas de alta densidad)
HR: *Hazard ratio*
hsPCR: Proteína C reactiva de alta sensibilidad
HTA: Hipertensión arterial
HVI: Hipertrofia ventricular izquierda
IAM: Infarto agudo de miocardio
IAMCEST: Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST
IAMSEST: infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST
IBP: Inhibidores de la bomba de protones
IC: Intervalo de confianza
ICAM-1: *Intercellular Adhesion Molecule 1*
IECAs: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IL-3: Interleucina 3

IL-6: Interleucina 6
IL-8: Interleucina 8
IMC: Índice de masa corporal
IP-10: *Interferon-inducible protein-10*
I-TAC: *Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant*
LDL: *Low density lipoprotein* (lipoproteínas de baja densidad)
LDL-MM: *Minimally modified low density lipoprotein*
LDLox: *Low density lipoprotein oxidized*
LOX-1: *Lectin like oxidized-LDL receptor-1*
Lp A: Lipoproteína a
MATCH: *Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High Risk Patients*
MCP-1: *Monocyte chemoattractant protein 1*
MCSF: *Macrophage colony stimulating factor*
MIG: Monokine induced by interferon- γ
MMPs: Metaloproteinasas
MMP-1: Metaloproteinasas 1
MMP-3: Metaloproteinasas 3
MRFIT: *Multiple Risk Factor Intervention Trial*
NADH/NADPH: Nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado/nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado reducido
NF- κ B: Factor nuclear- κ B
NO: Óxido nítrico
NT-ProBNP: Prohormona N- terminal del péptido natriurético cerebral
OASIS: *Organization to Assess Strategies for Ischaemic Syndromes*
OCLA: *Omeprazole CLopidogrel Aspirin*
OPUS-TIMI: *Oral Glycoprotein IIb/IIIa Inhibition with Orbofiban in Patients with Unstable Coronary Syndromes*
OR: *Odds ratio*
PA: Presión arterial
PACA: *Proton pump inhibitors And Clopidogrel Association*
PCR: Proteína C reactiva
PDGF: *Platelet-derived growth factor*
PGE₂: Prostaglandina E₂
PRI: Índice de reactividad plaquetaria
P-sel: Selectina P
PTH: Hormona paratiroidea
REGICOR: *Registre Gironí del Cor*
RPA: Riesgo poblacional atribuible
RR: Riesgo relativo
SCA: Síndrome coronario agudo
SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST
SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST
TIMPS: Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas
TG: Triglicéridos
TGF- β : *Transforming growth factor beta*
VASP: *VAsodilator Stimulated Phosphoprotein*
VCAM-1: *Vascular cell adhesion molecule 1*
VEGF: *Vascular endothelial growth factor*
VLA-4: *Very late antigen-4*

Introducción

1. Epidemiología de la aterosclerosis y magnitud del problema

Las enfermedades cardiovasculares son actualmente la primera causa de mortalidad de los países desarrollados y constituyen un gran problema sanitario que consume una importante cantidad de recursos (1). En Europa suponen un 45% de todas las muertes, es decir, más de 4 millones de muertes cada año (2).

Entre las enfermedades cardiovasculares, la aterosclerosis es la más frecuente y la responsable del mayor número de muertes (1). La enfermedad aterosclerótica comienza en edades tempranas de la vida y sigue una evolución subclínica durante décadas, manifestándose entre la quinta y la sexta década de la vida en los varones y aproximadamente unos diez años más tarde en las mujeres. Sus principales manifestaciones clínicas son el infarto agudo de miocardio (IAM), la angina de pecho, la muerte súbita, el accidente cerebrovascular y la enfermedad vascular periférica (EVP). La aparición de la enfermedad clínica y su progresión están condicionadas en gran medida por la presencia de los llamados factores de riesgo cardiovascular (FRCV).

1.1. Prevalencia de la aterosclerosis

La estimación de la prevalencia real de la enfermedad coronaria en la población general es compleja. Dicha estimación se realiza a partir de encuestas poblacionales que pueden subestimar la prevalencia real de la cardiopatía isquémica ya que a menudo ésta es clínicamente silente o produce pocos síntomas, incluso en estados avanzados de enfermedad coronaria (3). En concreto, se ha estimado que aproximadamente 15,4 millones de personas mayores de 20 años en Estados Unidos padecen cardiopatía isquémica (4). Ello corresponde a una prevalencia total de enfermedad coronaria entre los mayores de 20 años del 6,4% (el 7,9% de los varones y el 5,1% de las mujeres). En lo que se refiere al infarto de miocardio, la tasa de prevalencia se estima en el

2,9% (el 4,2% de los varones y el 2,1% de las mujeres). No se tienen datos de la prevalencia real de enfermedad coronaria en nuestro país. Solo un estudio de hace más de una década analizó directamente la tasa de prevalencia de angina en la población general, y la situó en el 7,3% de los varones y el 7,7% de las mujeres (5). Los datos obtenidos de la encuesta de población del Instituto Nacional de Estadística nos sirven para realizar una aproximación indirecta. En ella se preguntó explícitamente sobre el hecho de haber padecido un infarto de miocardio en los últimos doce meses y se observaron unas estimaciones para cada grupo de edad inferiores a las de la población americana: 1% en varones y 0,57% en mujeres (6). Asimismo, en todos los grupos etarios se puede observar un descenso significativo de la tasa de respuestas positivas a la pregunta sobre el infarto de miocardio desde la encuesta realizada en el año 2006 a la de 2012 (Figura 1).

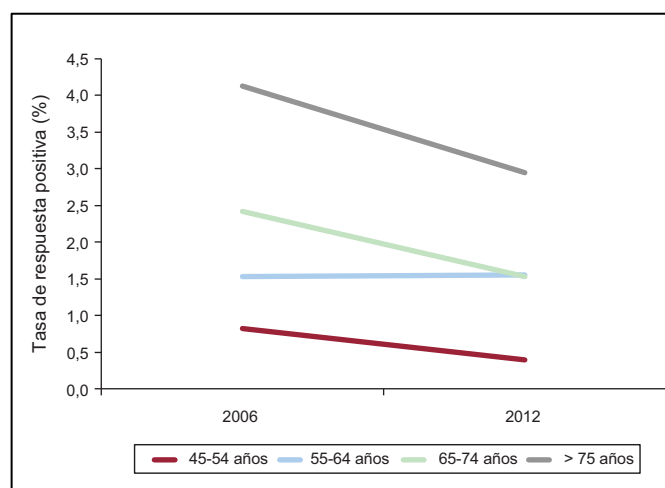


Figura 1. Diferencia entre 2006 y 2012 en la tasa de respuestas positivas, según grupos etarios, a la pregunta sobre “antecedentes de infarto de miocardio en los últimos 12 meses” de la encuesta de población del Instituto Nacional de Estadística (7).

La prevalencia de enfermedad coronaria se incrementa con la edad en ambos sexos. En mayores de 75 años el riesgo de padecer enfermedad coronaria es del 35% en varones y 24% en mujeres. Los datos más recientes siguen mostrando un predominio masculino tanto de la enfermedad coronaria en general como del infarto de miocardio en particular en todos los grupos etarios (4) a pesar de que en las últimas décadas ha habido un descenso de la prevalencia de enfermedad coronaria en varones y un ligero aumento de la

misma en las mujeres (8).

1.2. Incidencia de la aterosclerosis

En relación con la tasa de incidencia (entendida como el número de casos nuevos de una enfermedad en una población y en un periodo de tiempo concreto), el estudio que más conocimiento ha aportado es el de Framingham (9). La incidencia de eventos coronarios aumenta rápidamente con la edad, de tal manera que la incidencia general de enfermedad coronaria a edades entre 65 y 94 años se duplica en los varones y se triplica en las mujeres respecto a edades entre 35 y 64 años. La forma de presentación inicial también difiere entre ambos sexos: la angina de pecho es la forma de presentación más frecuente en mujeres menores de 75 años mientras que el infarto de miocardio predomina entre los varones de todos los grupos de edad, y solo un 20% se precede de angina de pecho (9). La incidencia de la enfermedad coronaria en general ha disminuido en las últimas décadas en los países desarrollados; concretamente en Estados Unidos se ha reducido entre 114 y 133 casos por cada 100.000 personas-año de seguimiento (10). Además, desde la mitad de la pasada década, se observa una tendencia general hacia una discreta disminución de la tasa de altas por enfermedad coronaria en varios países de nuestro entorno y en nuestro propio país (Figura 2) (11). Esta evolución temporal no es equiparable a los países en vías de desarrollo donde la incidencia de eventos coronarios ha aumentado en las últimas décadas. Los incrementos más marcados de la incidencia de eventos coronarios en el mundo corresponden a Oriente Medio, Latinoamérica y, en menor medida, Extremo Oriente. Este ejemplo de salud cardiovascular deficiente está en probable relación tanto con el escaso control de los FRCV como con la reducida inversión de dichos países en la prevención y tratamiento de estas enfermedades (7).

En cuanto a la forma de presentación de la enfermedad coronaria se ha documentado un aumento relativo en la incidencia de Síndrome Coronario Agudo (SCA) sin elevación del segmento ST (SCASEST) a expensas de una reducción del SCA con elevación del segmento ST (SCACEST). En el Registro Nacional de Infarto de Miocardio estadounidense, se demostró un aumento de la proporción de SCASEST del 19% en 1994 al 59% en 2006 (4).

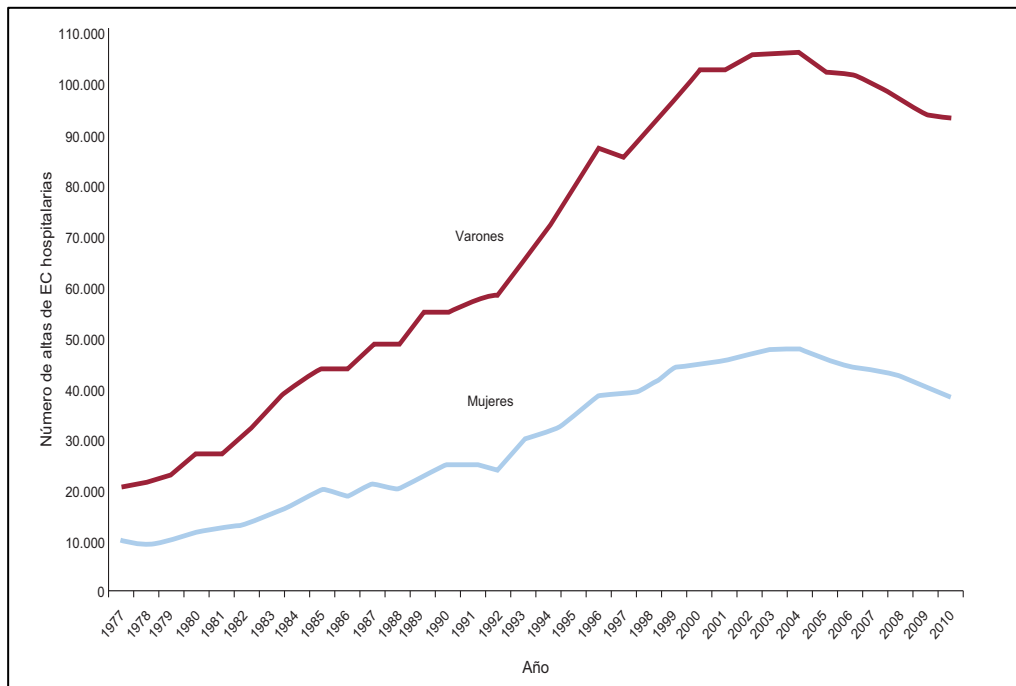


Figura 2. Número de altas de enfermedad coronaria por sexos en España entre 1977 y 2010 según el Instituto Nacional de Estadística (11).

En nuestro país la distribución publicada en un análisis reciente a partir de registros previos y estadísticas poblacionales oficiales, sigue la misma tendencia: durante 2013 el 38,2% de los eventos se presentaron como SCACEST, el 55,8% como SCASEST y un 6% de SCA fueron no clasificables (11). También se estimó en dicho estudio un importante aumento esperable en la incidencia de SCA durante los próximos 35-40 años, paralelo al envejecimiento poblacional.

1.3. Pronóstico de la aterosclerosis

La cardiopatía isquémica es la principal causa de muerte por enfermedad cardiovascular tanto en Estados Unidos, donde representa un tercio de todas las muertes de los mayores de 35 años (1), como en Europa, siendo responsable del 19% de las muertes en varones y del 20% de las muertes en mujeres (2). La tasa de mortalidad es mayor en varones que en mujeres: 3 veces mayor en el grupo de 25-34 años y 1,6 veces mayor en el grupo de 75-84 años. Hay cierta variabilidad geográfica en cuanto a la tasa de mortalidad por cardiopatía

isquémica que es mayor en los países del centro y este de Europa que en los del norte, sur y oeste (2) (Figura 3).

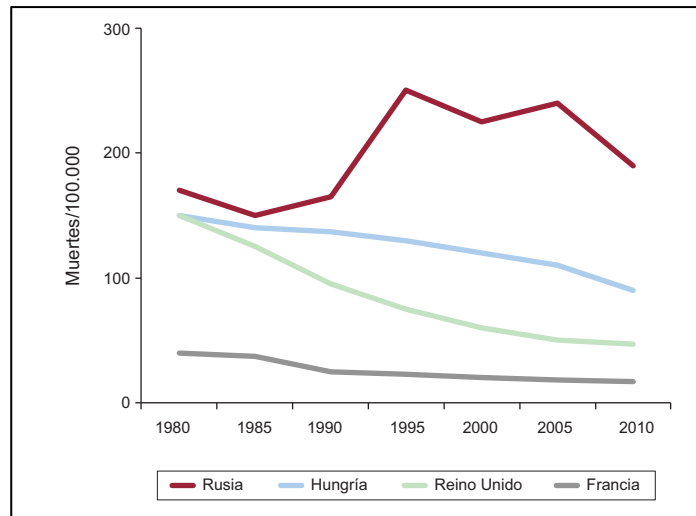


Figura 3. Evolución de las tasas de mortalidad por cardiopatía isquémica entre los menores de 65 años de varios países europeos (7).

Las tasas de mortalidad por cardiopatía isquémica en los países desarrollados han disminuido en ambos sexos de manera continuada en los últimos 40 años (11) (Figura 4).

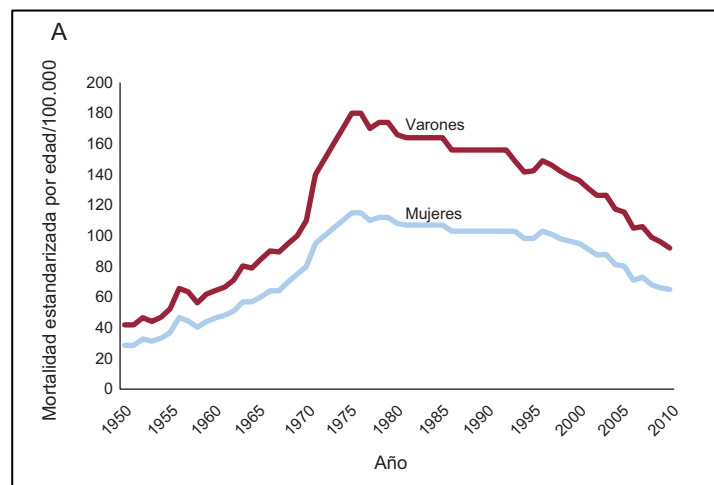


Figura 4. Tasas estandarizadas de mortalidad por enfermedad coronaria en España entre 1950-2010 según el sexo (11).

En nuestro país se ha observado un descenso relativo menos acusado de la tasa de mortalidad por infarto de miocardio que en Estados Unidos (12). En

España el descenso de la mortalidad por enfermedad coronaria, ajustada por edad, ha sido un 40% desde 1988 a 2005 (13). Aproximadamente un 50% de la magnitud de ese descenso se puede atribuir a las mejoras en el tratamiento, tanto en la terapia de revascularización coronaria en la fase aguda de los SCA, como en el tratamiento médico con fármacos como betabloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs), estatinas y antiagregantes como la aspirina (AAS) o el clopidogrel (14). Esta proporción de mejora atribuida al tratamiento aumenta en los últimos años como consecuencia de los avances tecnológicos y farmacológicos (15,16). El otro 50% se ha atribuido a un mejor control de los factores de riesgo en la población general, como es la reducción del colesterol total, la presión arterial sistólica, el tabaquismo y el sedentarismo (17). Estas mejoras en el control de los factores de riesgo en países desarrollados se han visto mermadas en cierta medida por un incremento en el índice de masa corporal medio y la prevalencia de diabetes mellitus, a los que se considera causa de, aproximadamente, un 18% de la mortalidad por cardiopatía coronaria. No obstante se espera que la mortalidad por cardiopatía isquémica se incremente en los próximos años en los países en vías de desarrollo (China, India, África subsahariana, América latina y Oriente Medio), desde los 9 millones estimados en 1990 a los 19 millones esperados para 2020 (18), como consecuencia de cambios sociales y económicos, el aumento de la esperanza de vida, el sedentarismo, el hábito tabáquico y una “occidentalización” de la dieta (19).

En Estados Unidos, desde 1996 hasta 2006 la mortalidad descendió un 30% (1). Dicha mortalidad a largo plazo es mayor en los SCASEST (11%) que en el SCACEST (7%) (20) y los datos difieren según sean obtenidos de ensayos clínicos o de registros. La mortalidad a los 30 días del SCACEST en ensayos clínicos ha pasado a ser del 13% sin tratamiento revascularizador, al 6-7% con fibrinólisis y al 3% tras la terapia revascularizadora invasiva (21-23). En los datos obtenidos de registros poblacionales la mortalidad se sitúa en un 9% durante el ingreso y en un 11% a los 30 días (24,25). Los datos del registro REGICOR, uno de los registros pioneros de cardiopatía isquémica de base poblacional de Gerona, muestran que el IAM todavía tiene una mortalidad elevada en nuestro país (26). Un 20% de los pacientes entre 35 y 74 años con

IAM que llegan vivos al hospital muere durante su estancia hospitalaria, algo menos de la mitad (42,1%) de todos los pacientes que tienen un IAM mueren en el primer mes y dos tercios de esas muertes ocurren antes de que el paciente reciba atención hospitalaria especializada. Esto último es quizá el punto más negativo y sobre el que menos se ha influido hasta el momento actual. La mortalidad pre hospitalaria del IAM en España puede llegar hasta un 66% según la bibliografía consultada (27). En la figura 5 se muestran los datos sobre la situación del SCA en España en el año 2013 observándose que la mortalidad del IAM con y sin elevación del segmento ST (IAMCEST e IAMSEST) a los 28 días sigue estando en torno a un 11% (11).

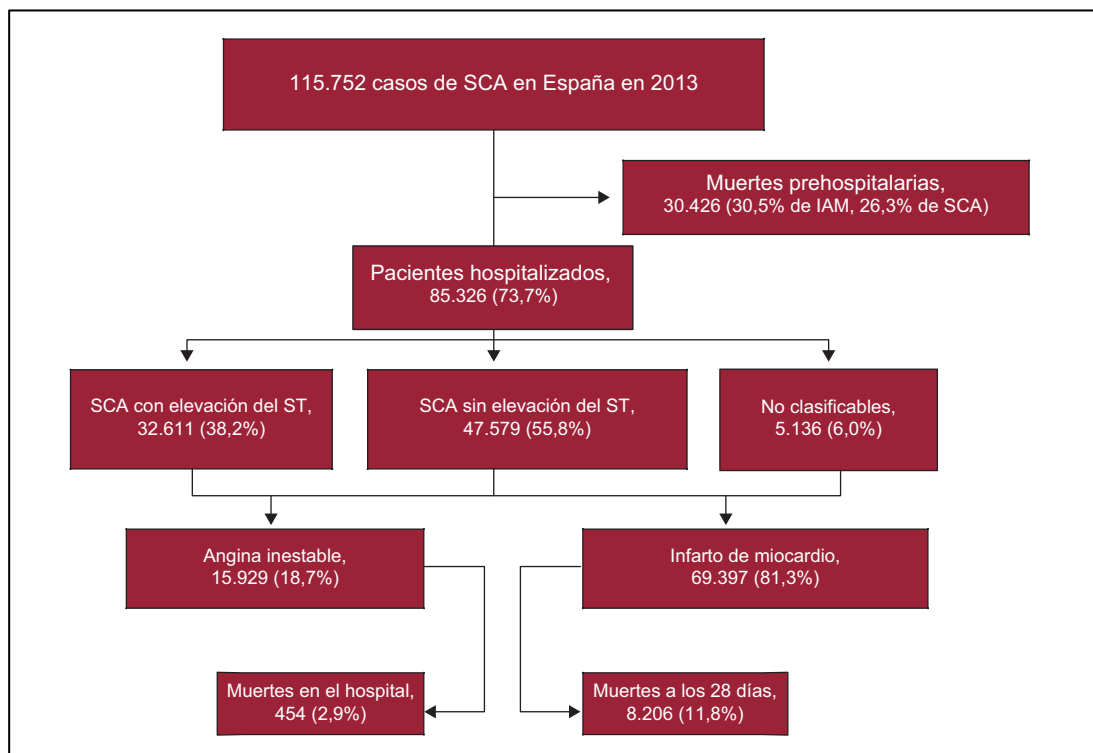


Figura 5. Diagrama de flujo del número de casos de síndrome coronario agudo en España: datos de población, muertes fuera del hospital y letalidad a los 28 días de iniciarse los síntomas de los pacientes hospitalizados. IAM: infarto agudo de miocardio; SCA: síndromes coronarios agudos (11).

1.4. Impacto económico de la aterosclerosis y costes asociados

Otro dato de importancia a tener en cuenta es la gran cantidad de recursos, tanto económicos como humanos, que suponen la asistencia y el tratamiento de

la enfermedad coronaria. El aumento de la prevalencia de dicha enfermedad, unido al desarrollo tecnológico que implica un mayor coste por paciente, aumenta el coste total. Para calcular los costes de la enfermedad coronaria, se contabilizan entre otros los costes del control de los factores de riesgo, del uso de medicamentos, de la hospitalización, del intervencionismo percutáneo, de la revascularización quirúrgica y del uso de dispositivos en los pacientes con insuficiencia cardíaca secundaria a enfermedad coronaria. Los datos relativos al consumo de dichos recursos en nuestro país son escasos. Uno de los estudios publicados recientemente con este objetivo incluyó a 1.020 pacientes con SCA de los cuales 632 (62%) tenían elevación del segmento ST (28). El coste medio por paciente fue de 14.069 euros. El 87,1% fueron costes sanitarios directos, el 66,7% de atención especializada y el 20,4% de atención primaria. Los costes de hospitalización fueron el 63% del total. Los costes de los pacientes con más de un evento fueron de 22.750 euros, frente a 12.380 euros con un solo evento ($p<0,001$).

Además, se sabe que como consecuencia del envejecimiento de la población, del desarrollo tecnológico y del aumento de la prevalencia en la enfermedad coronaria, los costes directos crecerán con tendencia exponencial de aquí a 2030, sin que esté claro cómo nuestra sociedad podrá asumir dichos costes (29). De aquí la importancia de poner todos nuestros esfuerzos en implementar terapias para prevenir la enfermedad coronaria en edades tempranas de la vida.

2. Fisiopatología de la aterosclerosis

La pared arterial tiene tres capas: la íntima, la media y la adventicia. La íntima está formada por una capa de células endoteliales (CE) situadas sobre una lámina basal de tejido conectivo. El endotelio no tiene una mera función de barrera limitante de la sangre, sino varios cometidos de gran interés. Regula el intercambio molecular entre la sangre y la pared vascular, cuyo tono controla produciendo óxido nítrico (NO) y prostaglandina I_2 , que inducen relajación de las células musculares lisas (CML) de la capa media de la pared arterial (30,31). Además, el NO regula la permeabilidad vascular, y tiene acciones

antiproliferativas y antitrombóticas (32–35). Todo ello hace que tenga un papel clave en la protección contra la aterotrombosis.

La capa media está separada de la íntima por la lámina elástica interna, y compuesta por colágeno, fibras elásticas y CML, que regulan el tono vasomotor. En el proceso aterosclerótico estas células proliferan y migran siendo responsables de la formación de la cápsula fibrosa de las lesiones.

Por último, la adventicia es la capa más externa de la arteria, estando delimitada de la capa media por la llamada lámina elástica externa, que está compuesta de tejido conectivo al igual que la interna. Esta capa está formada por tejido fibroelástico que contiene nervios y vasa vasorum. Quizás por ser la más alejada de las lesiones, es la que menos atención ha recibido en el estudio del proceso aterotrombótico (36). Sin embargo, en estos años se ha reivindicado un papel para ella en la etiopatogenia de la aterosclerosis (37).

2.1. Formación de la placa aterosclerótica

2.1.1. Distribución selectiva de las lesiones

Las lesiones ateroscleróticas se presentan fundamentalmente en vasos grandes y medianos y, dentro de ellos, en la cara interna de las curvaturas o frente a las bifurcaciones, donde las condiciones de flujo facilitan la acumulación de moléculas en la pared arterial (38). En estas zonas hay un menor rozamiento de la sangre circulante sobre la pared vascular, y esto hace que el endotelio no exprese su fenotipo habitual de células ordenadamente alineadas en la dirección del flujo (39,40), existiendo un aumento del recambio celular y, como consecuencia, disminuyen las uniones intercelulares, aumentando la permeabilidad endotelial a las moléculas circulantes en sangre (38,41,42).

2.1.2. Disfunción endotelial

La disfunción endotelial es el evento inicial de la aterosclerosis (43) y su hecho clave es una menor disponibilidad de NO, que puede deberse tanto a una disminución de su producción como a una mayor destrucción del mismo. El

endotelio libera NO en respuesta a varias sustancias que estimulan los receptores acoplados a proteínas Gi sensibles a la toxina *pertussis* (serotonina, agonistas adrenérgicos α_2 y trombina) o a proteínas insensibles a esta toxina (adenosín difosfato (ADP), bradicinina) (44,45). Se ha demostrado que la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL) interfiere selectivamente con la primera de estas dos vías *in vitro* y que disminuye la expresión de NO sintasa endotelial, que sintetiza constitutivamente NO en el endotelio (46,47).

Además, un incremento de la presencia de dimetil L-arginina asimétrica, un inhibidor endógeno de la NO sintasa endotelial cuyos niveles están aumentados en la hipercolesterolemia, puede potenciar estos mecanismos (48,49).

Otra vía que provoca una menor disponibilidad de NO sería el aumento de su catabolismo. En condiciones fisiológicas, el NO se degrada reaccionando con el superóxido y la oxihemoglobina (50). En la aterosclerosis se ha observado un aumento de estrés oxidativo, con generación de superóxido por las oxidasas endoteliales (51–53). Además de reducir la disponibilidad de NO, esta reacción tiene otro efecto deletéreo. La reacción del NO con el superóxido produce peroxinitrito (ONOO-), que a bajas concentraciones tiene acciones similares al NO y puede actuar incluso como donante de esta molécula, pero en elevada cantidad es un potente oxidante (54–57). Este compuesto puede fragmentar proteínas por nitración de aminoácidos, causar toxicidad por radicales hidroxilo y formar ácido peroxinitroso, que es tóxico (58–60). Además, un aumento de síntesis de NO por la NO sintasa inducible por citoquinas podría contribuir a elevar los niveles de peroxinitrito (61).

El sistema renina-angiotensina juega un papel importante en la disfunción endotelial. La angiotensina II (ANG II) es un potente agente oxidante, y aumenta la producción de anión superóxido tanto *in vivo* como *in vitro*, a través de la ruta metabólica de la NADH/NADPH (nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado/nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado reducido) (62,63). Además, se ha sugerido que la ANG II podría regular a la baja la expresión de NO sintasa endotelial a través de la vía de protein-kinasa C (64). Así, un aumento de la ANG II tisular puede contribuir a un incremento de la destrucción de NO y a una reducción de su producción. De hecho, se ha

visto que los fármacos que interfieren con el sistema renina-angiotensina mejoran la función endotelial y que en las lesiones ateroscleróticas hay un aumento de expresión del enzima convertidor de angiotensina (65,66).

2.1.3. Reclutamiento celular

2.1.3.1. Acumulación de LDL, estrés oxidativo y factores de transcripción

En condiciones fisiológicas las lipoproteínas que entran en el espacio subendotelial vuelven a la sangre mediante un mecanismo de transporte invertido del colesterol en el que pueden estar involucradas las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (67). Cuando hay disfunción endotelial, el aumento de permeabilidad vascular hace que la cantidad de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que entran en la pared del vaso exceda la capacidad del sistema de transporte invertido del colesterol para devolverla a la sangre. A esto se une el hecho de que algunos factores de riesgo, como la diabetes y el tabaco, reducen los niveles de HDL dificultando aún más el lavado de LDL (68–70). Además, en la diabetes hay glicosilación de las LDL, lo que impide que sean reconocidas por sus receptores y hace que se aclaren más lentamente de la sangre (71,72).

Todo esto, junto a la capacidad de los proteoglicanos de la pared arterial para retener las lipoproteínas, resulta en un aumento del tiempo de residencia de éstas en el espacio subendotelial. Aquí las lipoproteínas sufrirán una primera oxidación, facilitada por el hecho de que su unión a los proteoglicanos las hace más susceptibles a este proceso, dando lugar a las llamadas LDL mínimamente modificadas (73,74).

Estas LDL se unen al endotelio a través del receptor LOX-1 (lectin like oxidized-LDL receptor-1) y esto, junto con el estado oxidativo existente en el medio, la ANG II y, probablemente, las menores fuerzas de rozamiento presentes en las áreas propensas a la aterosclerosis activan el factor nuclear- κ B (NF- κ B) mientras que las moléculas protectoras como las HDL o el propio NO tienen el efecto opuesto (75–80).

2.1.3.2. Moléculas de adhesión y quimioattractantes

El factor NF- κ B probablemente juega un papel clave en el proceso activando múltiples moléculas involucradas en la patogenia de la aterosclerosis (77,81). Entre éstas aparecen las moléculas de adhesión, llamadas así porque favorecen la adherencia de las células circulantes al endotelio. La VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) es probablemente la que más estrecha relación guarda con el proceso aterosclerótico, pues se une a la integrina VLA-4 (very late antigen-4), expresada por linfocitos y monocitos, es decir, por los dos principales

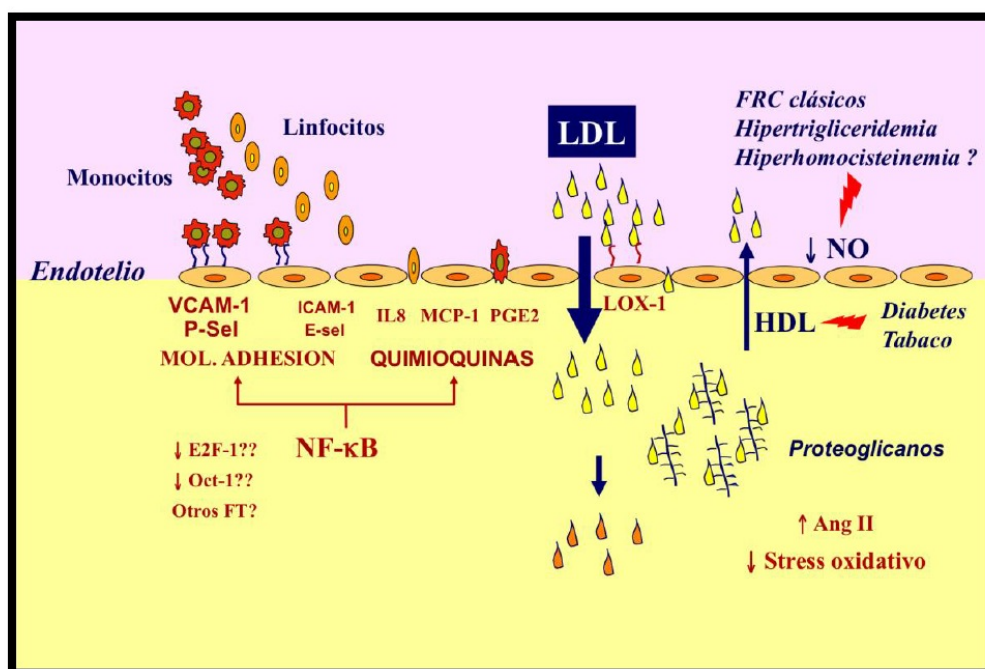


Figura 6. Esquema de la interacción de las diferentes citoquinas involucradas en la disfunción endotelial, en el que se aprecia la vía del NF- κ B que estimula la síntesis y liberación de moléculas de adhesión que favorecen la adhesión de células circulantes al endotelio y quimioquinas (que facilitan la entrada de los leucocitos en el endotelio) (82). ; Ang II: Angiotensina II; E-sel=Selectina E; FT=Factores de transcripción; ICAM-1: Intercellular Adhesion Molecule 1; IL8: Interleucina 8; LOX-1: lectin-type oxidized LDL receptor 1; MCP-1: monocyte chemotactic protein 1; P-sel=Selectina P; PGE2: prostaglandin E2; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1.

tipos celulares que infiltran las lesiones. De acuerdo con esto, en modelos animales se ha objetivado la expresión de esta molécula por el endotelio en lesiones ateromatosas incipientes (82). La ICAM-1 (intercelular adhesion molecule-1) podría ser, teóricamente, menos específica de esta entidad, ya que se

une a más tipos de leucocitos e incluso es expresada en condiciones normales por el endotelio (83). En el grupo de las llamadas selectinas, posiblemente la P-selectina tiene el papel más importante en la aterogénesis, habiéndose detectado su expresión en el endotelio del ateroma humano (84).

Una vez que las moléculas de adhesión han conseguido fijar a los leucocitos sobre el endotelio, éstos son estimulados por citoquinas quimioattractantes, también llamadas quimioquinas, para hacer diapédesis y penetrar en la pared vascular (Figura 6). Posiblemente la más importante de éstas es la MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), que es expresada más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano y cuyo bloqueo limita el infiltrado linfomonocitario en ratones apo E (85,86). Se ha demostrado que el tratamiento con estatinas e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) reduce su expresión en modelo de aterosclerosis de conejo (76,87). Otras quimioquinas, que estarían involucradas principalmente en el reclutamiento de linfocitos, serían las inducidas por la presencia de interferon- γ , que está presente en las lesiones: la MIG (monokine induced by interferon- γ), I-TAC (interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant) e IP-10 (interferon-inducible protein-10) (88). Por último, los derivados del ácido araquidónico parecen tener también importancia en este proceso. De un lado, el enzima proinflamatorio ciclooxigenasa-2 (COX-2), junto con la prostaglandina E_2 sintasa, median la producción de la prostaglandina quimioattractante E_2 (89). Por otro, la lipooxigenasa-5 puede dar lugar al leucotrieno B_4 , con capacidad quimioattractante, y a los cisteinilleucotrienos, que aumentan la permeabilidad vascular (90).

En el espacio subintimal, los monocitos se transforman en macrófagos que, en un proceso mediado por las lipooxigenasas que expresan, oxidarán más intensamente a las LDL mínimamente modificadas (91). Este proceso es favorecido por la ANG II, y la glicosilación previa de la LDL en diabetes que aumentan la susceptibilidad de estas lipoproteínas al proceso oxidativo (66,92,93). Los mismos macrófagos captan estas LDL oxidadas a través de sus receptores basurero (scavenger receptors), habiéndose involucrado también a otros receptores, como el CD36 y la macrosialina. Este proceso es mediado por MCSF (macrophage colony stimulating factor) y potenciado por la ANG II. Los

macrófagos así activados estimulan a su vez la expresión celular del enzima convertidora de angiotensina, y por tanto la síntesis de ANG II, cerrando así un círculo vicioso (Figura 7) (51,66).

Además, estas células se replicarán, proceso también estimulado por MCSF y otras moléculas, como la IL-3 (Interleukine 3) y el GMC-SF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). Dado que la captación de lípidos la realizan sin mecanismo de saturación, acaban por degenerar y se transforman en células espumosas sobrecargadas de grasa. Los macrófagos finalmente mueren y liberan lípidos, con los que formarán el núcleo ateromatoso, y sustancias tóxicas como enzimas, radicales libres y aniones superóxido (75,94). Estos productos lesionan el endotelio, que pasará de ser simplemente disfuncionante a tener daño morfológico e incluso en algunas áreas quedará destruido.

2.1.4. Formación de la cápsula fibrosa

La exposición del colágeno subyacente a la sangre y el estado protrombótico del endotelio disfuncionante estimulan la adhesión de plaquetas a la pared vascular. Estas células perpetúan la reacción inflamatoria estimulando la producción de citoquinas (95). Además, liberan factores de crecimiento, junto con los macrófagos presentes en la lesión, como el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas). Estos factores inducen la proliferación y migración de las CML procedentes de la capa media de la arteria, que se unirán a otras habitualmente residentes en la íntima habiéndose sugerido recientemente que células progenitoras de la adventicia podrían diferenciarse también a CML (96–99). Esta fase proliferativa es reforzada por un aumento de la ANG II y una reducción en la presencia de NO, que tiene efecto antiproliferativo (51,100–103).

Las CML de la lesión ateromatosa muestran un fenotipo diferente a las normales, con mayor presencia de órganos secretores, como el retículo endoplásmico, y menor de fibras contráctiles (104). Estas células liberan también factores de crecimiento, cubren el núcleo ateromatoso y, bajo el estímulo de PDGF, TGF- β (transforming growth factor- β) y CTGF (connective tissue growth factor) producen proteínas de matriz junto a las cuales

constituirán la cápsula fibrosa (94,105–107). Las proteínas más frecuentemente encontradas en el ateroma son los colágenos I y III, varios proteoglicanos y, también, hay fibras elásticas. La cantidad de estas proteínas dependerá, no solo del nivel de síntesis de las mismas, sino del grado de destrucción que sufran a cargo de las metaloproteinasas (MMP) (108). Estas enzimas serán además de gran importancia en el fenómeno de migración de las CML, al ir disolviendo la matriz para que éstas puedan progresar, así como en el remodelado positivo que sufren los vasos cuando las lesiones son aún incipientes (109,110). Es de

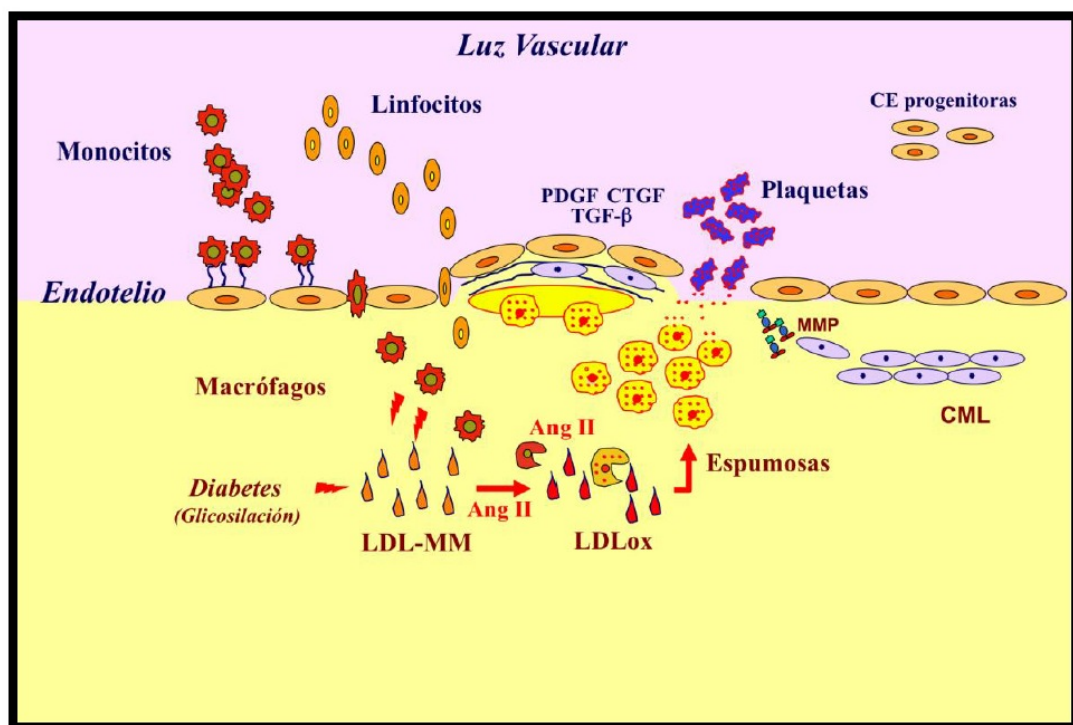


Figura 7. Fisiología del daño endotelial. El daño y ausencia endotelial dejarán expuesto el colágeno de la pared vascular a la sangre sobre el que se adhieren las plaquetas. Estas células, junto con los propios macrófagos segregarán los llamados factores de proliferación. Así, las CML proliferan y migran al espacio subendotelial donde cubrirán el núcleo ateromatoso que se ha ido formando a expensas de lípidos extracelulares y células espumosas sobre todo. Además, producirán proteínas de matriz extracelular (colágeno, etc.) con las que formarán lo que será la cápsula de la lesión aterosclerótica (82). AngII: Angiotensina II; CE=Células endoteliales; CML: Células Musculares Lisas; CTGF: connective tissue growth factor; LDL-MM: minimally modified low density lipoprotein; LDLox: low density lipoprotein Oxidized; MMP: Metaloproteinasas; PDGF: Platelet-derived growth factor; TGF-β: transforming growth factor beta.

reseñar que, durante la evolución, puede existir calcificación de la placa favorecida por la secreción de citoquinas como las proteínas morfogénicas óseas o la presencia de proteínas con residuos de ácido glutámico γ -carboxilo, que tiene capacidad de fijar el calcio y promueve la mineralización.

Finalmente, durante este proceso, la placa forma microvasos en probable respuesta a factores angiogénicos, entre otros, VEGF (vascular endotelial growth factor), oncostatina M y factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) (111).

Teóricamente estos microvasos pueden contribuir a la aterogénesis de dos modos. Primero, porque suponen una gran superficie de contacto con la sangre, a cuyo través pueden reclutarse más células inflamatorias y de hecho, el endotelio de estos vasos expresa más VCAM-1 que el que cubre la lesión (112). Segundo, porque pueden ser el origen de hemorragias que constituyen un estímulo para la progresión de la placa (113).

2.2. Complicación de la placa aterosclerótica

Las placas pueden estar presentes en el árbol arterial en la tercera década de la vida (113,114). Una vez formadas pueden progresar lentamente, continuando el proceso aterosclerótico descrito. Sin embargo, también pueden crecer súbitamente si se complican con un trombo. En estos casos pueden producir un SCA si el trombo ocluye de manera total o subtotal la luz vascular (114). En los casos en que la oclusión no sea tan severa y no produzca síntomas inmediatos, el trombo va a estimular una reacción fibrótica, favoreciendo la síntesis de colágeno por parte de las CML en respuesta a la producción de TGF- β , PDGF y otros mediadores liberados por las plaquetas (104). Además, la presencia de trombina induce proliferación de estas CML (115). Según el grado de estenosis que produzca la lesión resultante podrá ocasionar angina de esfuerzo o incluso ser asintomática. En este sentido, en las autopsias de sujetos fallecidos por causa no cardiovascular se ha observado que pueden existir lesiones coronarias con trombos antiguos organizados (114). En un estudio que incluyó casi 4.000 autopsias de soldados norteamericanos, 98% varones, con una edad media de 25,9 años, se detectó que la prevalencia de

aterosclerosis coronaria de cualquier magnitud fue del 8,5%, que era severa en un 2,3%, moderada en el 4,7% y ligera en el 1,5% (116). Aquellos sujetos con enfermedad coronaria tenían mayor prevalencia de dislipemia, hipertensión arterial (HTA), obesidad y mayor edad (30 años frente a 25, $p<0,001$). Señalamos que en este artículo el tabaquismo no se asoció con mayor prevalencia de lesiones coronarias, quizá debido a la edad de los participantes. Así, este estudio muestra la edad temprana a la que aparecen tanto los factores de riesgo, como la propia aterosclerosis, en una población aparentemente sana y entrenada físicamente.

Es de interés clínico el hecho de que una gran parte de los SCA se deben a complicaciones de placas que previamente no tenían estenosis severas, como se demostró en estudios en los que pacientes con un SCA se habían realizado una coronariografía en los meses previos (117,118). Esto se debe, en gran medida, a que las lesiones leves y moderadas son más frecuentes que las severas. Por esta razón, aunque está descrito que las lesiones severas no muestran más datos de vulnerabilidad que las ligeras, individualmente, una lesión severa podría tener más posibilidad de ocasionar un IAM, posiblemente porque el tamaño de trombo necesario para causar una oclusión total es menor (119). Sin embargo, hay datos que sugieren que una lesión no severa podría ser especialmente peligrosa. Así, la ausencia de isquemia crónica en una lesión moderada hará que no se desarrolle circulación colateral que podría ser protectora en caso de oclusión. Por otra parte, se ha visto que las lesiones vulnerables favorecen más frecuentemente el remodelado positivo, (expansión del vaso) que las estables y es sabido que cuanto mayor es la luz vascular mayor es el estrés circunferencial sobre las placas (120,121). Esto supone que la ausencia de angina o de isquemia inducible en una prueba de provocación no descarta la posibilidad de que un paciente tenga alto riesgo de sufrir un SCA, lo que ha fomentado la investigación de nuevos abordajes de este problema como, por ejemplo, técnicas de imagen no invasiva o biomarcadores plasmáticos.

2.2.1. Ruptura de la cápsula fibrosa

Aproximadamente el 75% de los SCA se debe a este mecanismo (114,122,123). La cápsula es una estructura rica en colágeno y otras proteínas

de matriz extracelular que rodea el núcleo lipídico de las lesiones y le confiere resistencia mecánica a la ruptura (122,123). Si se rompe, la sangre contacta con este core lipídico, que es rico en factor tisular derivado de los macrófagos, y esto desencadenará una trombosis (124). En consecuencia, todo lo que lleve a una reducción de la cantidad de colágeno, o de las CML que lo sintetizan, debilitará la cápsula, haciéndola más propensa a la ruptura.

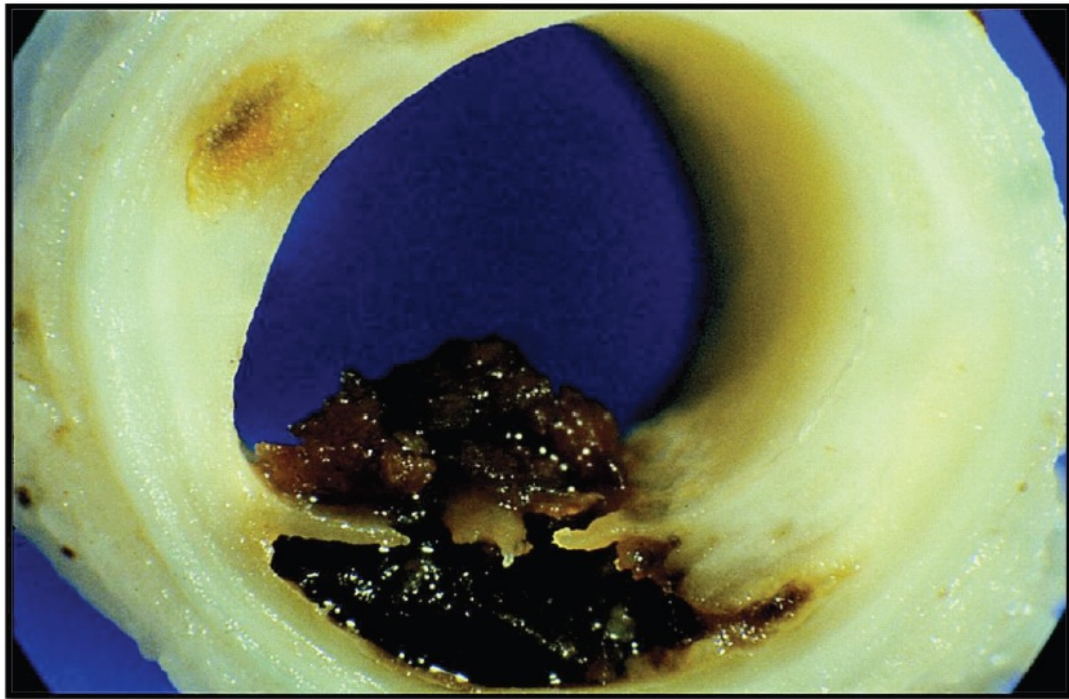


Figura 8. Fotografía de una placa aterosclerótica complicada. Obtenida de la referencia (119).

Aunque las fuerzas hemodinámicas son la causa última de ruptura de la placa, este proceso tiene lugar sobre todo en placas vulnerables. Así hay factores mecánicos que pueden aumentar la vulnerabilidad de la placa. Por ejemplo, el core lipídico no puede soportar la tensión ejercida por la sangre circulante y la redistribuye parcialmente hacia la cápsula fibrosa. Cuanto más grande es el núcleo y menor su consistencia, más cantidad de tensión es redistribuida hacia la cápsula (84). Ésta es pues, una de las razones por las que las lesiones ateroscleróticas con cápsulas fibrosas finas y de bajo contenido en colágeno son más propensas a la ruptura (84,123,125). Además de la mayor tensión circunferencial de las placas menos estenosantes, ya referida, también se ha sugerido que las placas situadas en

las regiones de arterias coronarias que sufren mayor flexión durante la sístole tienen más posibilidad de romperse (126).

Sin embargo, la ruptura de la cápsula no siempre aparece en las regiones de máximo estrés, sino que también sucede en otras áreas que han sido previamente debilitadas por factores biológicos, entre los que destacan la inflamación y la apoptosis (127).

2.2.2. Inflamación

La presencia de una reacción inflamatoria juega un papel determinante en la vulnerabilidad de las lesiones ateroscleróticas. Se ha visto que las placas responsables de un evento agudo están infiltradas más frecuentemente por macrófagos, linfocitos T y CML activadas que las estables (128,129). De acuerdo con esto, se ha comprobado que la temperatura de las placas causantes de SCA es mayor que la de las lesiones estables y que, además, las que tienen una mayor temperatura tras una angioplastia son más propensas a complicarse en el futuro (130).

Las células inflamatorias degradan la matriz extracelular por medio de enzimas como las metaloproteinasas (MMPs), las collagenasas y gelatinasas entre otras, debilitándola (107,131,132). La regulación de las MMPs no sólo es transcripcional. Su actividad también se controla secretándolas como formas inactivas, junto con los llamados inhibidores tisulares de las MMPs (TIMPS), de modo que una disminución de estos inhibidores conllevará un aumento del grado de proteólisis en la placa. Por otra parte, puede haber una reducción de la producción de colágeno, tanto por macrófagos como por CML, cuando son estimulados por interferón gamma (132,133).

En los últimos años se ha sugerido también que los mastocitos, células inflamatorias presentes principalmente en la adventicia, podrían estar implicados en la inestabilidad de la placa por múltiples mecanismos, ya que pueden debilitarla activando MMPs, favoreciendo la generación de ANG II a través de la producción de quinasas, induciendo apoptosis de CML, e incluso facilitando el espasmo coronario por liberación de histamina (134,135). De hecho, estas células están presentes más frecuentemente tanto en la placa como en la adventicia de los vasos responsables de un SCA (136,137).

Todo lo comentado para la inflamación en el proceso de formación de la placa es aplicable a este estadio, ya que los mecanismos son similares. Entre las múltiples moléculas proinflamatorias cuya expresión regula al alza el factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B), se encuentran varias MMPs, como la MMP-1 y MMP-3 (138). Acorde con esto, hay una mayor actividad de NF- κ B en placas coronarias responsables de un SCA que en las estables. Así mismo hay una mayor presencia de NF- κ B activado en los hombros de las placas de aterosclerosis carotídea que en la zona de la cápsula (139,140).

De especial interés en este proceso son el receptor CD40 y su ligando CD40L, que componen un mecanismo clave del sistema inmunológico. La unión de CD40L al receptor desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de la célula, a través de la vía de NF- κ B (141,142). Así, el bloqueo de esta vía con un anticuerpo anti-CD40L disminuye el infiltrado de macrófagos y aumenta la presencia de colágeno en la aterosclerosis experimental (143).

El posible papel de la inflamación en la complicación de la placa aterosclerótica ha sido reforzado además por estudios que han demostrado que en los SCA hay un aumento de los niveles plasmáticos de varias de las moléculas inflamatorias descritas, como MCP-1, moléculas de adhesión, varias MMPs, CD40L o del grado de actividad de NF- κ B en leucocitos circulantes, entre otros. Es más, incluso una elevación de varias de éstas en pacientes estables o sujetos sanos pueden predecir la aparición de un SCA (144–149). En este sentido, se ha visto que la AAS en prevención primaria es más efectiva precisamente en los sujetos con mayores niveles de proteína C reactiva (PCR) (148). Además, otros tratamientos efectivos en esta patología, como pueden ser las estatinas y los IECAs, reducen la inflamación en las placas de ateroma. Incluso el vino tinto reduce la inflamación en células circulantes en seres humanos (139,150–153).

Por último, es importante reseñar el vínculo existente entre inflamación y trombosis. Por ejemplo, NF- κ B regula al alza la expresión de factor tisular, presente en el núcleo lipídico de las lesiones y que es clave en la iniciación de la trombosis (75). Por otra parte, el ligando CD40L no solo se une a su receptor, sino que es capaz de hacerlo a los receptores IIb-IIIa de las plaquetas, dotando de mayor estabilidad al trombo (154). Posiblemente en relación con esto, los

fármacos bloqueadores de estos receptores son más efectivos en los pacientes con SCA que tienen niveles altos de CD40L (155).

2.2.3. Apoptosis

Este proceso fisiológico de suicidio celular está presente en las placas ateroscleróticas y podría tener un papel potencial en su complicación (155,156). Los macrófagos liberan MMPs y factor tisular cuando sufren apoptosis, lo que podría favorecer la ruptura y trombosis de la placa (157,158). Por otra parte, se ha sugerido que un aumento de la tasa de apoptosis de las CML debilitaría la placa, ya que ellas forman la cápsula de la misma y producen proteínas de matriz como el colágeno. De acuerdo con esto, los especímenes de aterectomía coronaria de placas complicadas contienen más CML apoptóticas y menos cantidad de estas células que las placas estables (159). Más aún, hemos observado que hay más expresión de caspasa 3 activa, el enzima iniciador de apoptosis, en los hombros de placas ateroscleróticas de carótida extraídas por endarterectomía, es decir, en la región más vulnerable a la ruptura (139,160). En todo caso, los mecanismos reguladores del equilibrio entre formación y destrucción de la cápsula no están aclarados ya que, por ejemplo, el factor profibrótico CTGF al que nos hemos referido previamente es también capaz de inducir apoptosis de CML, con lo que es difícil saber cual es el efecto que prevalecerá sobre la producción de matriz extracelular (106,107,161).

2.2.4. Infección

A nivel experimental se han descrito múltiples mecanismos por los cuales varios microorganismos podrían inducir trombosis de la placa, como la producción de citoquinas, de factores protrombóticos o desencadenar reacciones de autoinmunidad por semejanza con algún componente de estos agentes a los de la pared vascular (162–165). Sin embargo, no hay una clara evidencia clínica de que la infección juegue un papel habitual en la aterosclerosis. Así, diversos estudios serológicos para *Chlamydia pneumoniae* y Citomegalovirus han mostrado datos discordantes (162,166,167). Igualmente, los estudios que han ensayado tratamiento antibiótico, fundamentalmente contra Chlamydia, y han analizado su efecto en la incidencia de eventos coronarios agudos han arrojado

resultados dispares (168–172). Por tanto, cabe concluir que la infección no es un factor habitualmente presente en la formación y complicación de las placas ateroscleróticas, aunque no podemos descartar por completo que tenga un papel importante en algún subgrupo de casos.

2.2.5. Trombosis sin ruptura de placa

Este mecanismo se ha observado en una cuarta parte de los casos (122). Conlleva una pérdida del endotelio que recubre las placas, exponiendo el colágeno a la sangre, lo que causa adhesión plaquetaria. En las placas avanzadas es habitual que haya cierta deposición de plaquetas que no ocasione síntomas y que, por los mecanismos explicados, induzca la proliferación de CML (173). Los estudios de autopsia muestran dos patrones posibles bajo la erosión. Van der Waal *et al* encontraron infiltrados inflamatorios similares a los presentes en los casos de ruptura de la cápsula, (128) mientras que Farb *et al* describen un alto contenido en proteoglicanos, con CML próximas y, en cambio, escaso contenido lipídico e inflamatorio (174). Este último cuadro se veía sobre todo en mujeres jóvenes y estaba más relacionado con el tabaco, y menos con los niveles de colesterol. No se conoce el mecanismo de la trombosis en estos casos. Se ha sugerido que algún tipo de proteoglicano presente en las placas podría favorecer la trombosis (174,175). Otra posibilidad es que pueda deberse a un estado protrombótico sistémico. En este sentido es sabido que los leucocitos activados pueden transferir factor tisular activado a las plaquetas (176). Por último, existe la posibilidad de que pueda haber una deficiencia de moléculas antitrombóticas, como la trombomodulina y la proteína C en las placas, facilitando la trombosis (177). Son pues necesarias más investigaciones para dilucidar el mecanismo de la trombosis en estos casos. De todas maneras, estos datos nos llevan al concepto de una posible heterogeneidad en la fisiopatología de los SCA dependiendo de los factores de riesgo coronario que existan en cada caso.

3. Factores de riesgo coronario

3.1. Definición de factor de riesgo e historia de su aparición

Aunque a día de hoy es bien conocido el papel que los FRCV tienen en la etiopatogenia de la enfermedad coronaria y la importancia del control de dichos factores tanto en prevención primaria como secundaria, se han necesitado varias décadas para estar seguros de estas afirmaciones.

Se podrían definir los FRCV como aquellas condiciones cuya presencia facilita y favorece el desarrollo de aterotrombosis y cuya erradicación o atenuación, bien sea con cambios en el estilo de vida o con fármacos, resulta en una menor incidencia de esta patología (178). El término “factor de riesgo” apareció por primera vez en el título de un artículo científico en 1963 (179).

Este término ha sido ampliamente aceptado y utilizado en otros campos de la medicina como por ejemplo en la patología neurológica y en la patología vascular periférica.

Entre 1930 y 1950 varias publicaciones científicas informaban que los pacientes con enfermedad coronaria tenían mayores niveles de colesterol en sangre, cifras de presión arterial (PA) más elevada y eran predominantemente varones (180–182). Pero las conclusiones que se podían extraer de esta información eran muy limitadas pues se trataba de estudios de casos y controles donde se medían los niveles de colesterol y las cifras de PA en pacientes que habían tenido un IAM. Para poder establecer una relación causal entre los niveles altos de colesterol en sangre, las cifras elevadas de PA y el sexo varón era necesario realizar un estudio prospectivo donde se midiesen estas variables en personas sanas y se estudiase posteriormente la incidencia de enfermedad coronaria en esta población. Este estudio se empezó en el año 1948 reclutando a los vecinos sanos de la ciudad de Framingham y fue trasferido al año siguiente al National Heart Institute (183). Así, en 1950, el Estudio Framingham, como se hizo llamar desde entonces, había incluido más de 5000 adultos sanos con edades comprendidas entre los 30 y 59 años. En 1957, cuando el 90% de los sujetos tenía un seguimiento superior a 4 años, 1 de cada 20 sujetos había tenido algún episodio clínico como consecuencia del desarrollo de enfermedad coronaria (184). Este

estudio confirmó que el sexo varón, la hipercolesterolemia y la HTA eran factores de riesgo coronario. La tasa de incidencia de eventos coronarios en varones era el doble que en las mujeres. Los varones con hipertensión, obesidad o niveles altos de colesterol tenían un riesgo de sufrir un evento coronario entre dos y seis veces superior al resto (184). Gran parte de la relación entre la obesidad y la enfermedad coronaria podría estar también explicada por su asociación con la HTA. Dos años después, en un estudio publicado como continuación de este, con 6 años de seguimiento se objetivó que la incidencia de enfermedad coronaria estaba inversamente relacionada con el nivel educativo y que el tabaquismo era predictor de la aparición de enfermedad coronaria. Además, los niveles de colesterol eran superiores en los fumadores activos y en los ex-fumadores que en los sujetos que nunca habían fumado (185).

Durante las décadas posteriores se realizaron varios estudios que confirmaron los hallazgos del Estudio Framingham (186–188). En 1978 se publicaron los datos de un metanálisis donde se añadieron el tabaquismo y la diabetes a lo que sería la lista de los factores de riesgo coronario conocidos como “clásicos” (189). En el registro MRFIT (*Multiple Risk Factor Intervention Trial*), que incluyó 380.000 personas provenientes de tres estudios prospectivos sin antecedentes de enfermedad coronaria previa, se establecieron como factores de riesgo un colesterol ≥ 240 mg/dl, una presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg o diastólica ≥ 90 mmHg, el hábito tabáquico y la diabetes (190). Esta lista de FRCV se amplió hasta el número de nueve en el siglo XXI con el estudio INTERHEART donde se constató que, añadidos a los factores de riesgo coronario “clásicos”, la obesidad, el sedentarismo, el escaso consumo de frutas y verduras y el estrés aumentan el riesgo de tener un evento coronario. Además un leve consumo de alcohol era protector (191). Así, dicho estudio mostró que se relacionan con el riesgo de IAM el consumo de tabaco [razón de probabilidades (RP) 2,87, con un riesgo poblacional atribuible (RPA) del 35,7% frente al que nunca fumó], la hiperlipemia, medida como la relación APOB/APOA1 (RP 3,25 para el quintil superior frente al inferior con un RPA 49,2% para los cuatro quintiles superiores en comparación con el inferior), historia de HTA (RP 1,91, RPA 17,9%), diabetes (RP 2,37, RPA 9,9%), obesidad abdominal (RP 1,12 para el tercil superior en comparación con el inferior, RPA 20,1% para los dos terciles

superiores comparados con el inferior), factores psicosociales (RP 2,67, RPA 32,5%), consumo diario de frutas y verduras (RP 0,70, RPA 13,7% para el grupo que no consumía), consumo regular de alcohol (RP 0,91, RPA 6,7% frente a los no consumidores), y realización de actividad física regular (RP 0,86, RPA 12,2%) (191).

Pero no sólo los FRCV arriba descritos son determinantes de la probabilidad de que un sujeto desarrolle enfermedad coronaria. Se sabe que hay otros factores que afectan al desarrollo de esta patología. Entre ellos podemos destacar la accesibilidad de la población a los servicios de salud pública tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de las enfermedades, así como el nivel educacional de la población. Esto se demostró en un estudio publicado recientemente por Yusuf *et al.*(192), que incluyó 156.424 personas de zonas urbanas y rurales de 17 países con diferente nivel económico (alto, medio o bajo). Se realizó un seguimiento de 4,1 años y se calculó la incidencia de eventos cardiovasculares y la mortalidad. Se observó que la incidencia de eventos cardiovasculares era mayor en los países con un bajo nivel económico a pesar de que en esos países la carga de FRCV era menor. Aunque en los municipios rurales el peso de los FRCV era menor que en las zonas urbanas, tanto los eventos cardiovasculares como la mortalidad eran mayores. Esto nos lleva a pensar que la carga tan alta de FRCV que tiene la población de los países con un nivel económico alto se contrarresta o mitiga de alguna manera con un mejor control de dichos factores de riesgo, con el uso más frecuente de tratamientos farmacológicos e incluso de revascularización coronaria, de tal manera que el pronóstico de esta población a medio plazo es mejor que el de las personas de países con un nivel económico mas bajo.

3.2. Factores de riesgo cardiovascular establecidos

Vamos a enumerar brevemente cada uno de los FRCV considerados como establecidos y repasar las evidencias científicas que hay en la literatura para que se hayan considerado como tales.

3.2.1. *Hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia*

Inicialmente, la afirmación de que los niveles elevados de colesterol eran un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad coronaria se basaba en los niveles de colesterol total debido a la falta de métodos para analizar las diferentes subclases de lipoproteínas en sangre. Con el uso progresivo de técnicas como la ultracentrifugación (193) y la electroforesis (194), se observó que la distinta distribución del colesterol en las lipoproteínas mejoraba la predicción de riesgo coronario (195). De esta manera se descubrió que el aumento de colesterol LDL y del no-HDL favorecían el desarrollo de enfermedad coronaria (196,197). La asociación entre los niveles bajos del colesterol HDL y ésta se propuso por primera vez en el año 1956 (196), pero no fue hasta casi 20 años más tarde cuando se reconoció su relación con el desarrollo de enfermedad coronaria al conocerse su papel en el transporte invertido de colesterol (198). Posteriormente se descubrió que una forma inmunológicamente distinta de LDL, la lipoproteína a (Lp(a)) (199), también tenía relación con la incidencia de enfermedad coronaria, independientemente de los niveles de colesterol LDL (200). Esta lipoproteína, debido a su analogía estructural con el plasminógeno, interfiere en la fibrinólisis espontánea compitiendo con él en su unión molecular (201,202). La Lp(a) se une a macrófagos a través de un receptor de alta afinidad que promueve la formación de células espumosas, así como el depósito de colesterol en las placas de ateroma (203). También tiene propiedades antitrombogénicas inhibiendo por ejemplo la agregación plaquetaria inducida por colágeno. Sobre esto hay numerosos estudios publicados con resultados dispares; alguno de ellos objetivan que la Lp(a) es un factor de riesgo de enfermedad coronaria independiente y otros afirman que sólo lo es cuando hay otros factores de riesgo presentes (204).

La hipertrigliceridemia se consideró por primera vez en 1959 un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria (205). Posteriormente se publicaron algunos estudios epidemiológicos con resultados contradictorios, hasta que en 1996 se corroboró que la capacidad de la concentración de triglicéridos (TG) en sangre para predecir el desarrollo de enfermedad coronaria disminuye cuando en el análisis se incluyen otro tipo de lípidos, especialmente niveles bajos de HDL (206,207).

3.2.2. Hipertensión arterial

Mucho antes de la aparición de los estudios epidemiológicos de la era moderna, los médicos ya conocían que los sujetos con cifras elevadas de PA tenían más riesgo de enfermedad coronaria que aquellos con cifras normales (181). El estudio de Framingham puso de manifiesto que la presión arterial sistólica era tan buen predictor de riesgo como la presión arterial diastólica (183). Posteriormente un metanálisis de nueve estudios mostró una asociación directa, continua e independiente de la PA con la enfermedad coronaria (208). Se demostró que incluso pequeños aumentos en las cifras de PA favorecían el desarrollo de enfermedad coronaria en varones jóvenes hasta 25 años después (209). Algunos de los mecanismos por los que la HTA favorece el desarrollo de cardiopatía isquémica son la hipertrofia ventricular, la disfunción endotelial y la alteración del sistema renina-angiotensina, además de la asociación con la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico (210–212).

3.2.3. Tabaquismo

Aunque en 1964 un informe (“The Surgeon General’s report”) mostró una asociación del tabaquismo con la tasa de mortalidad por enfermedad coronaria, no fue hasta 1971 cuando se estableció una clara relación causal entre ambas, considerando el tabaco no solamente un factor de riesgo para enfermedad coronaria sino el factor de riesgo “modificable” más importante en Estados Unidos (213). Así, el riesgo de enfermedad coronaria disminuye tras el abandono del hábito tabáquico. De hecho dejar de fumar es la “modificación” que parece más efectiva y barata de todos los FRCV que se conocen (214). Se sabe que el tabaco no sólo acelera el proceso de aterogénesis, sino que también aumenta el riesgo de que la enfermedad coronaria se manifieste clínicamente. El vasoespasmo, la disfunción endotelial, la modificación de la respuesta inmunológica, inflamatoria y trombogénica son algunos de los efectos del tabaco que podrían estar implicados en la patogenia de dicha asociación (215). Un estudio realizado en autopsias de 113 varones con enfermedad coronaria que fallecieron por muerte súbita, demostró que el tabaquismo se asociaba a trombosis coronaria, a diferencia de los niveles elevados de colesterol (principalmente la

relación colesterol total/HDL) que eran un factor predisponente para la ruptura de las placas ateroscleróticas (216).

3.2.4. *Sexo masculino*

Algunos autores opinan que el sexo masculino es el FRCV más potente y también el menos entendido aún (217). De hecho, las diferencias observadas en la población blanca se atenúan en la raza negra (218). Aunque la protección que las mujeres pre menopaúsicas tienen para la cardiopatía isquémica se ha atribuido durante muchos años a los estrógenos, paradójicamente, los varones que han sido tratados con estrógenos tras un IAM han tenido más recurrencia de eventos coronarios (219). En el año 2002 se publicaron dos ensayos clínicos con terapia hormonal sustitutiva en mujeres post menopaúsicas donde se observó que dicha terapia no prevenía el desarrollo de enfermedad coronaria (220) y además, en la actualidad, se sabe que la terapia hormonal sustitutiva aumenta el riesgo cardiovascular en mujeres sanas (221). Por tanto, continuamos sin saber el motivo último por el que la mujer pre menopaúsica está protegida para el desarrollo de enfermedad coronaria.

3.2.5. *Historia familiar y marcadores genéticos*

La historia familiar de enfermedad coronaria es un factor de riesgo para el desarrollo de la misma (222). La primera vez que se demostró que la aparición de enfermedad coronaria en personas jóvenes tenía cierta agrupación familiar fue cuando se identificó que dichos sujetos tenían niveles extremadamente elevados de colesterol como consecuencia de una enfermedad que se transmitía con herencia autosómica dominante: la dislipemia familiar (223,224). Posteriormente se han encontrado varios genes que están asociados con alteraciones tanto en los lípidos como en las lipoproteínas y que suponen un aumento del riesgo de cardiopatía isquémica. No obstante, a día de hoy, estos hallazgos apenas tienen valor para predecir la susceptibilidad individual de cada sujeto al desarrollo de cardiopatía isquémica en la práctica clínica habitual .

3.2.6. *Diabetes Mellitus*

La prevalencia de diabetes está aumentando en la población de EE.UU. y ha crecido desde los 2 millones de casos que existían a principios de la década de 1960 a 15 millones en el año 2000 (225). Las estimaciones actuales proyectan unos 22 millones de casos en el 2025 (226). Los pacientes diabéticos tienen un riesgo entre 2 y 4 veces superior de sufrir enfermedad coronaria (227) y un riesgo absoluto de muerte por dicha enfermedad más de 3 veces superior que los no diabéticos, incluso tras ajustar por factores de riesgo establecidos (228). Una vez que han sufrido un evento coronario, también tienen más riesgo de complicaciones: en el estudio OASIS (*Organization to Assess Strategies for Ischaemic Syndromes*) realizado en 6 países los diabéticos que habían tenido una angina inestable o un SCASEST tuvieron una mayor incidencia de ictus, insuficiencia cardíaca y muerte durante la hospitalización que los no diabéticos (229). Se sabe además, que los pacientes pre diabéticos en los que aún no ha habido un debut clínico de dicha patología tienen ya el proceso de aterogénesis acelerado (230) y que tienen también más riesgo de desarrollo de enfermedad aterosclerótica en cualquiera de sus formas clínicas (231). La resistencia a la insulina a menudo se acompaña de otros trastornos como la obesidad visceral, la intolerancia a la glucosa, las cifras bajas de colesterol HDL, el aumento de TG y de colesterol LDL y la HTA (232). Esto es lo que se conoce con el nombre de síndrome metabólico (233), afecta a uno de cada cinco adultos de Estados Unidos y se asocia con un riesgo alto de enfermedad coronaria (234,235).

3.2.7. *Obesidad*

Aunque la obesidad se ha asociado clásicamente con la enfermedad coronaria, también ha estado unida a otros factores de riesgo como la HTA, la diabetes mellitus o la dislipemia de manera que su efecto como factor de riesgo desaparecía en los análisis multivariados (236). Sin embargo cuando el seguimiento de los pacientes era a largo plazo (15 años o más) la obesidad (sobre todo la obesidad central) se confirmaba como un FRCV independiente (237–239).

3.2.8. Sedentarismo

Numerosos estudios han demostrado que la actividad física es un factor protector para la enfermedad coronaria (240). Además, el ejercicio mejora los niveles de colesterol, la PA, la resistencia a la insulina y ayuda a controlar el peso corporal (241). Por todo ello el ejercicio físico moderado reduce el riesgo de enfermedad coronaria (242).

3.3. Nuevos marcadores biológicos de riesgo cardiovascular

Hoy sabemos que los factores de riesgo mayores (diabetes mellitus, edad, sexo, tabaco, HTA, niveles elevados de colesterol LDL y bajos de HDL) sólo explican algo más del 50% de los eventos coronarios (243,244). Aproximadamente la mitad de los sujetos que desarrollan enfermedad coronaria tienen sólo uno o incluso ningún FRCV (190,245). Este grupo de pacientes con pocos factores de riesgo clínicos son los menos propensos a ser objeto de terapias preventivas y sin embargo sufren de igual manera un gran número de eventos cardiovasculares. Además se sabe que los factores de riesgo coronario convencionales pierden su capacidad predictiva con la edad, quizá porque no juegan un papel tan predominante en la evolución de la enfermedad como en los pacientes más jóvenes (246). Por todos estos motivos desde la década de los 90 se han buscado nuevos factores de riesgo que puedan permitirnos detectar una mayor proporción de población con alto riesgo de sufrir un evento cardiovascular. Esta búsqueda se ha centrado en marcadores inflamatorios, de trombosis, de hemostasia, del metabolismo mineral, relacionados con los lípidos y genéticos entre otros (247,248).

Mencionaremos a continuación brevemente algunos de los que tienen mayores evidencias y que por tanto hemos estudiado en esta Tesis.

3.3.1. Proteína C reactiva

La PCR es, sin duda, el más destacado entre todos los marcadores por la gran cantidad de estudios realizados. Es una proteína pentamérica que actúa como un reactante de fase aguda participando en un proceso de defensa innato e inespecífico. Se caracteriza por su rápida e intensa respuesta ante un estímulo

inflamatorio agudo (249). La PCR puede ejercer funciones antiaterogénicas pero también proaterogénicas pues interactúa con las células que han sufrido isquemia celular, favoreciendo la fagocitosis. Cuando este proceso tiene lugar en lesiones ateromatosas, la PCR puede participar en el adelgazamiento de la cápsula fibrosa de la placa y favorecer su desestabilización. Además tiene capacidad de unirse al LDL y favorecer su captación por macrófagos, activar las MMPs que favorecen la ruptura de la placa, reducir la producción de NO, inhibir la fibrinólisis y aumentar la producción de endotelina. Estos son, entre otros, los mecanismos a través de los cuales la PCR colabora en el progreso de la enfermedad coronaria (250). Además, la disponibilidad de la determinación de PCR de alta sensibilidad (hsPCR) ha permitido detectar respuestas inflamatorias de bajo grado que previamente no habían sido consideradas por pensar que carecían de relevancia clínica (251).

Uno de los primeros estudios prospectivos realizados con intención de analizar el valor predictivo de la PCR consiguió identificarla como un factor de riesgo en pacientes con enfermedad coronaria previa (252). Posteriormente numerosos estudios han demostrado el valor predictivo de las concentraciones elevadas de PCR. Entre ellos destacamos un análisis post-hoc del estudio MRFIT (253) en el que se analizaron las concentraciones basales de PCR en un grupo que había tenido eventos coronarios después de 7 años de seguimiento y en un grupo control con similares características clínicas pero que no había desarrollado enfermedad coronaria. En este análisis la concentración de PCR parecía predecir el riesgo coronario incluso durante largos periodos de tiempo. En un ensayo clínico randomizado y doble ciego sobre prevención primaria de enfermedad cardiovascular y cáncer se observó que la concentración basal de PCR era más alta entre los individuos que desarrollaban enfermedad coronaria o cerebrovascular que en los que permanecían libres de la misma tras más de 8 años de seguimiento (148).

En un estudio realizado en varones sanos (Physician's Health Study), se encontró una relación directa entre los niveles de hsPCR y la aparición de eventos coronarios futuros; los que tenían niveles de hsPCR en el cuartil superior tenían dos veces más riesgo de padecer un ictus, tres veces más riesgo de sufrir un IAM y 4 veces más riesgo de desarrollar EVP (148,254). La hsPCR ejerce un efecto aditivo sobre el valor predictivo de las concentraciones de colesterol total y de

colesterol HDL (255). Incluso es posible que el efecto conjunto de ambos factores de riesgo sea mayor que el producto de los efectos individuales de cada uno de ellos.

Los resultados de los estudios publicados en prevención secundaria no son totalmente concluyentes, aunque se deduce que la concentración de PCR en el momento del ingreso por un SCA podría ser de ayuda desde un punto de vista pronóstico ya que predice la aparición de infarto de miocardio a los 3 meses (256) y la muerte o insuficiencia cardíaca a los 30 días (257). Existen pocos datos publicados de la medición de PCR en una situación estable tras un infarto de miocardio (tres meses después). En el estudio CARE (*Cholesterol And Recurrent Events*) (146) se observó que la hsPCR tenía valor predictivo a largo plazo de forma similar a los estudios hechos en prevención primaria.

Un metanálisis de 22 estudios mostró que concentraciones de PCR $\geq 3\text{mg/dl}$ se asociaban con un aumento de riesgo de enfermedad coronaria del 60% [riesgo relativo (RR) 1,60; intervalo de confianza (IC) 95% (1,43-1,78)] (258).

Por todo ello la concentración de PCR y hsPCR puede ser considerada, al menos, como un potente marcador de riesgo cardiovascular (251). Las guías de práctica clínica americanas del 2010 afirmaban que la medición de los niveles de PCR podrían ser útiles en los pacientes con riesgo intermedio (259).

No obstante tenemos que decir también que hay datos en la literatura con resultados negativos en la capacidad de predicción del riesgo coronario de la PCR. En un análisis de 20536 pacientes del “Heart Protection Study” aleatorizados a recibir 40 mg de simvastatina vs. placebo se observó una reducción de eventos cardiovasculares mayores (definido como un objetivo combinado de muerte, IAM, ictus o revascularización) en el grupo de pacientes tratados con simvastatina que fue independiente de los niveles basales de hsPCR que tuviesen dichos pacientes (260). Otro estudio que sugiere que se debería revisar la recomendación del uso de la hsPCR como predictor de enfermedad coronaria es el publicado por Danesh *et al.* donde la capacidad predictiva de la hsPCR para enfermedad coronaria es tan sólo moderada (los pacientes con niveles de hsPCR en el tercil superior tienen 1,45 veces más riesgo de enfermedad coronaria que los que están en el tercil inferior) y añade un valor marginal a la predicción que los FRCV clásicos tienen de dicha patología (261).

3.3.2. *MCP-1*

La proteína quimioattractante de monocitos-1 (MCP-1) es la quimioquina más importante en el proceso aterotrombótico. Se expresa más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano (247). Se ha analizado su capacidad pronóstica en pacientes con SCASEST y se ha objetivado que los niveles de MCP-1 predicen el riesgo de muerte o IAM a los 10 meses, incluso tras ajustar para la edad, FRCV clásicos, historia previa de cardiopatía isquémica, aclaramiento de creatinina, grado de desviación del segmento ST en el electrocardiograma y niveles de Troponina I y PCR (262). En un estudio realizado por nuestro grupo en pacientes con cardiopatía isquémica en fase estable los niveles plasmáticos de MCP-1 fueron predictores independientes del desarrollo de SCA o accidente cerebrovascular (263).

3.3.3. *Péptidos natriuréticos: BNP y NT-ProBNP*

El péptido natriurético tipo B o cerebral (BNP) se sintetiza fundamentalmente en el tejido cardíaco en respuesta al daño o estrés miocárdico. Tiene propiedades vasodilatadoras, natriuréticas y evita la hipertrofia ventricular izquierda (HVI). El NT-ProBNP es un fragmento biológicamente inactivo del BNP (264). Clásicamente estas moléculas han sido reconocidas como marcadores de insuficiencia cardíaca aguda pero recientemente se ha visto también que son predictores de eventos cardiovasculares. En varios estudios se ha demostrado que las concentraciones plasmáticas de BNP y NT-ProBNP están asociadas de manera independiente con el riesgo de muerte e insuficiencia cardíaca (265–267). Valores de BNP >80 pg/ml se han asociado con un riesgo 5 veces mayor de insuficiencia cardíaca y 3 veces mayor de muerte (268). La medición de estos marcadores en pacientes con SCA se ha recomendado como Clase IIa para mejorar su estratificación pronóstica (269).

De la misma manera, estos marcadores han demostrado ser predictores de eventos cardiovasculares en pacientes con cardiopatía isquémica estable (270) en un estudio que incluyó a 1.034 pacientes con enfermedad coronaria documentada. Los que tenían concentraciones de NT-proBNP en el cuartil alto tenían 2,4 veces más riesgo de mortalidad a los 9 meses que los que estaban en el cuartil bajo (271). En otro estudio reciente realizado por nuestro grupo en pacientes con

cardiopatía isquémica crónica en fase estable, los niveles plasmáticos de NT-ProBNP fueron predictores del objetivo secundario de muerte o insuficiencia cardíaca (Hazard Ratio (HR)=1,025, IC 95%=1,008 – 1,042; $p = 0,004$) y del objetivo primario combinado de eventos isquémicos agudos, muerte o insuficiencia cardíaca (HR=1,020, IC 95%=1,006 – 1,034; $p = 0,005$) (263). Asimismo, se ha demostrado que el NT-ProBNP es uno de los mejores predictores de muerte cardiovascular, IAM o ictus, mejorando la capacidad discriminativa de los FRCV en pacientes con cardiopatía isquémica estable (272). También en prevención primaria los niveles de ambos péptidos natriuréticos predicen la aparición de enfermedad cardiovascular, como se demostró en un estudio derivado del Framingham, donde niveles de BNP >20 pg/ml se asociaron con un aumento entre el 60 y el 200% del riesgo de eventos cardiovasculares, ictus, insuficiencia cardíaca y muerte de cualquier causa (273). Además, varios estudios han demostrado que la capacidad predictiva de eventos cardiovasculares y mortalidad cardiovascular del BNP o NT-ProBNP es superior a la de la PCR, tanto en prevención primaria (274,275) como secundaria (272).

Finalmente, también se ha estudiado la capacidad que pueden tener los péptidos natriuréticos en la predicción de otras enfermedades o complicaciones no cardiovasculares en pacientes con cardiopatía isquémica crónica. Así en un estudio de 699 pacientes con enfermedad coronaria estable nuestro grupo demostró que el NT-proBNP era un factor predictor independiente de la aparición de cáncer (276).

3.3.4. Biomarcadores del metabolismo mineral: vitamina D y FGF23

El calcio interviene en funciones orgánicas diversas, tanto a nivel intracelular como extracelular. Entre las funciones intracelulares podríamos mencionar su papel en la contracción muscular, en la actividad de la célula nerviosa, en los procesos secretorios mediante exocitosis, incluyendo la secreción de hormonas, o en la activación de enzimas diversos. Entre las funciones del calcio a nivel extracelular destaca, por ejemplo, su papel en la coagulación sanguínea, en el mantenimiento y estabilidad de las membranas celulares o en el de la integridad estructural de huesos y dientes.

En la regulación de los niveles orgánicos de calcio (y también de fósforo) intervienen, fundamentalmente, la paratohormona u hormona paratiroidea (PTH),

la calcitonina, la vitamina D y el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23). Mencionaremos ahora unas pocas palabras sobre los dos últimos marcadores por el valor añadido en esta Tesis.

La vitamina D:

El organismo produce la vitamina D cuando la piel se expone directamente al sol a partir del 7-dehidrocolesterol (sintetizado en el hígado) transformándose en colecalfiferol o vitamina D3. Muy pocos alimentos contienen vitamina D de manera natural. Los pescados grasos (atún, salmón y caballa) están entre las mejores fuentes de vitamina D.

En el plasma, la vitamina D circula ligada a una proteína fijadora de vitamina D, también llamada transcalfiferina, que es producida en el hígado. Es en este órgano donde el colecalfiferol es hidroxilado y se transforma en 25-OH-colecalfiferol o calcidiol, forma parcialmente activa que circula en plasma con una vida media de unos 15 días. En el riñón la 25-OH-vitamina D es hidroxilada de nuevo para dar lugar a la forma más activa de la vitamina, el 1,25-dihidroxicolecalfiferol o calcitriol. La enzima hidroxilasa responsable de este último paso aumenta cuando disminuye la calcemia y se libera PTH, por lo que podemos afirmar que la PTH y la vitamina D tienen acciones sinérgicas sobre los niveles de calcio en sangre.

Las funciones de la vitamina D se llevan a cabo fundamentalmente en el riñón, intestino y hueso. En el riñón, la vitamina D facilita la reabsorción de calcio e incrementa la respuesta del túbulo a la acción de la PTH. En el intestino el 1,25-dihidroxicolecalfiferol promueve la absorción del calcio intestinal principalmente aumentando la formación de una proteína ligadora del calcio en las células epiteliales intestinales y también facilita la absorción de fosfatos. En el hueso actúa, en presencia de PTH, estimulando la diferenciación de los osteoclastos y, por tanto, la resorción ósea, posibilitando una mineralización adecuada (277).

En los últimos años se han asociado los niveles bajos de Vitamina D con un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares. El déficit de esta vitamina favorece la disfunción endotelial, la inflamación, la aparición de diabetes mellitus tipo II, la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, la proliferación de las células del músculo liso y la calcificación vascular resultando por tanto en

un aumento del riesgo de HTA, enfermedad coronaria e ictus entre otros (278–282).

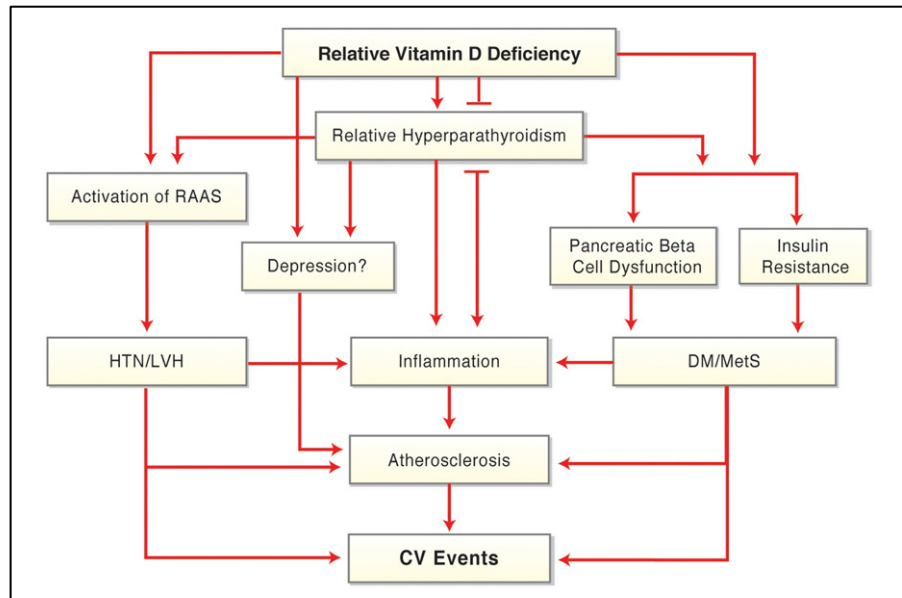


Figura 9. Posibles mecanismos de los efectos cardiovasculares del déficit de Vitamina D (282).

El FGF23:

El FGF23 se produce principalmente por osteocitos y osteoblastos en el hueso, pero también por las glándulas salivales, el estómago y, en concentraciones mucho más reducidas, en otros órganos.

El FGF23 secretado por el hueso actúa principalmente en el riñón para regular el manejo renal del fosfato y el metabolismo de la vitamina D. Las acciones del FGF 23 se realizan al unirse al receptor de membrana FGFR. Para esta unión precisa una proteína transmembrana denominada Klotho, la encargada, entre otras muchas funciones, de la sensibilidad del organismo a la insulina y de prevenir o enlentecer el proceso de envejecimiento.

El eje FGF23 hueso/riñón tiene al menos dos funciones fisiológicas:

- Proporcionar una señal fosfatúrica que emana del hueso para coordinar el flujo óseo de fosfato debido a alteraciones en el recambio y la mineralización en el hueso con conservación renal de fosfato.
- Proporcionar al organismo una hormona contrarreguladora de los efectos adversos de la exposición excesiva de vitamina D.

Los niveles de 1,25-dihidroxicolecalciferol son los principales reguladores del FGF23. Esto constituye un círculo hormonal clásico: incrementos de 1,25-dihidroxicolecalciferol → incrementa FGF23 → disminuye 1,25-dihidroxicolecalciferol (283).

El aumento de FGF23 en plasma (junto con el aumento de fosfato y PTH) se ha relacionado con un aumento de los eventos cardiovasculares como consecuencia de diferentes mecanismos: disfunción endotelial, aumento de la rigidez arterial y desarrollo de HVI (284,285). Además el aumento de FGF23 reduce los niveles de vitamina D en plasma (Figura 10). Así, nuestro grupo ha demostrado que la combinación de niveles altos de FGF23 y bajos de vitamina D se asocian con un aumento significativo del riesgo cardiovascular (286) .

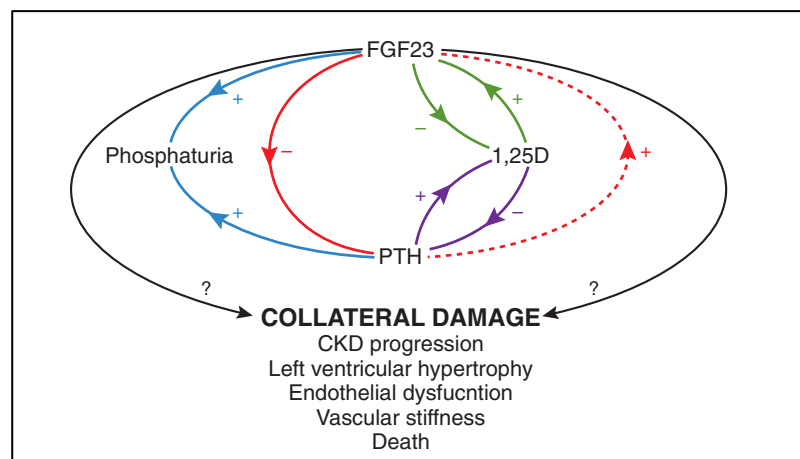


Figura 10.Efectos fisiológicos del FGF-23 y daños colaterales por la activación de receptores en células cardíacas, renales y arteriales (285).

4. Inhibidores de la bomba de protones (IBP) y riesgo cardiovascular

4.1. Mecanismo de acción de los IBP y prevalencia de su uso

Los IBP son fármacos derivados del benzimidazol formado por dos moléculas heterocíclicas unidas por un grupo metilsulfinilo. Tienen un potente efecto antisecretor de ácido gástrico mediante el bloqueo irreversible de la bomba de protones adenosin trifosfatasa sodio/potasio (ATPasa H^+/K^+), que se sitúa en la porción externa de la membrana canalicular e intercambia hidrógeno (H^+) por potasio (K^+) a ambos lados de la bicapa lipídica, participando así en la formación de ácido clorhídrico (HCl) en el lumen del estómago. Los IBP, al ser bases débiles lipofílicas alcanzan la membrana de la célula parietal como profármacos, requiriendo por tanto una activación previa. Penetran en el canaliculo secretor de la célula parietal gástrica y ahí se activan mediante la formación de un compuesto sulfonado. A continuación se unen a un residuo de cisteína de la bomba de protones mediante un enlace covalente y de esta manera se bloquea la ATPasa H^+/K^+ de una forma permanente, con lo que se bloquea la vía final común de la secreción de HCl. Aunque la semivida de estos fármacos en plasma es corta (de 1 a 2 horas), su efecto es más prolongado debido a que la inhibición irreversible requiere la síntesis de nuevas bombas de protones para reanudar la secreción ácida. La máxima supresión ácida se alcanza, en promedio, a los 3 días de tratamiento (287).

Desde la introducción de los IBP a finales de los años 80, su uso ha ido en aumento de forma exponencial con un incremento de hasta un 450% en la década de los 90 (288). Estos medicamentos se han convertido en uno de los grandes éxitos de la gastroenterología y en el pilar de la terapia de varias enfermedades relacionadas con la secreción del ácido gástrico como la úlcera péptica, la enfermedad por reflujo gastroesofágico y la dispepsia no ulcerosa (289,290). Entre sus ventajas están, no sólo la ya mencionada eficacia en la inhibición de la secreción ácida gástrica, sino también su gran biodisponibilidad por vía oral y su excelente tolerancia clínica (291). Ensayos clínicos recientes han demostrado que

la eficacia de estos fármacos en la inhibición de la secreción gástrica es claramente superior a la de otros antiácidos clásicamente usados como son los antagonistas de los receptores de histamina H₂ (ARH₂) (292).

Los IBP son uno de los medicamentos recetados con mayor frecuencia en el mundo. Según la agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), aproximadamente 21 millones de personas en Estados Unidos usaron un IBP al menos una vez en el año 2009 y en ese año las ventas superaron los 13 billones de dólares (291). Se sabe además que más del 50% de los pacientes continúan consumiendo estos medicamentos sin justificación entre los 3 y los 6 meses después del alta y que gran parte de ese consumo se hace sin supervisión médica (293–295).

A día de hoy disponemos de cinco IBP diferentes: omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol. Aunque todos ellos inhiben la secreción ácida gástrica de manera muy potente, pequeñas diferencias farmacocinéticas y farmacodinámicas entre ellos hacen que, tanto la eficacia clínica como las interacciones farmacológicas que posteriormente mencionaremos, puedan ser algo diferentes (296).

4.2. Importancia del tratamiento antiagregante en pacientes con enfermedad coronaria

El beneficio clínico del uso de antiagregantes plaquetarios en el tratamiento de los pacientes con enfermedad coronaria aterosclerótica ha sido ampliamente demostrado en las últimas décadas.

El AAS es un fármaco de la familia de los salicilatos que produce un defecto funcional en las plaquetas mediante la inactivación permanente de la cicloxigenasa 1 (COX-1) de tal manera que se suprime la síntesis de tromboxano A₂, prostaciclina y prostaglandina. Con dosis entre 50-150 mg/día es un antitrombótico eficaz (297). Está indicado en los pacientes con enfermedad coronaria porque disminuye la tasa de eventos cardiovasculares tanto en los pacientes con un evento coronario agudo como en aquellos con cardiopatía isquémica crónica (298).

El clopidogrel es una tienopiridina que requiere transformación hepática hasta un metabolito activo y que se une de forma irreversible al receptor de las plaquetas P₂Y₁₂, evitando así la activación de la glicoproteína IIb-IIIa (principal receptor del fibrinógeno de las plaquetas). Esta unión dura toda la vida de la plaqueta por lo que la función plaquetaria no vuelve a la normalidad hasta 7 días después de la última dosis (297). El tratamiento con doble antiagregación, añadiendo el clopidogrel a la AAS, está indicado en pacientes a los que se les ha realizado una angioplastia con implante de un stent o para aquellos que han tenido un evento coronario agudo ya que de esta manera se ha demostrado una reducción de nuevos eventos isquémicos cardiovasculares (299).

4.3. Mecanismo y riesgo de complicaciones gastrointestinales relacionadas con la antiagregación

Estos fármacos antiagregantes tienen efectos secundarios gastrointestinales (GI) que merece la pena destacar por la frecuencia e importancia de su aparición. El tratamiento crónico con AAS favorece la aparición de úlceras gástricas y sangrados GI como consecuencia fundamentalmente de dos mecanismos. El primero de ellos es un daño directo sobre la mucosa gástrica ya que la AAS inhibe la secreción de prostaglandinas que tienen un importante papel protector en la mucosa del estómago al aumentar el flujo sanguíneo de la misma, estimular la síntesis y secreción de bicarbonato y favorecer la proliferación del epitelio gástrico. De esta manera disminuye la protección existente sobre la mucosa gástrica y ésta se hace más susceptible a la formación de úlceras gástricas por la acción deletérea de factores endógenos como el ácido, la pepsina y las sales biliares. El segundo mecanismo es a través del efecto sistémico antiplaquetario ya que inhibe síntesis de tromboxano A₂ (300). Además, tanto la inhibición de la agregación plaquetaria como la liberación del factor de crecimiento de las plaquetas en el sitio de la lesión vascular atenúan la curación gástrica y favorecen una mayor susceptibilidad a la hemorragia GI (301).

En prevención primaria se recomienda el uso de dosis bajas de AAS para aquellos pacientes que tengan un riesgo cardiovascular superior al 10% a los 10 años o bien superior al 3% a los 5 años (302,303). Así, se estima que 50 millones

de estadounidenses utilizan dosis bajas de AAS (≤ 325 mg/día) como profilaxis primaria de eventos cardiovasculares (304). Se sabe que el tratamiento crónico con estas dosis de AAS aumenta entre 2 y 4 veces el riesgo de tener eventos GI (305,306). Un metanálisis de 14 ensayos clínicos randomizados afirma que el riesgo absoluto de padecer un evento GI estando tratado con dosis de AAS entre 75-325 mg/día es del 0,12% comparado con placebo (307). Se ha demostrado que, aunque la disminución de la dosis de AAS no supone una disminución del beneficio antitrombótico, el aumento de la dosis sí supone un aumento del riesgo de sangrado GI (308). Así, en una población de pacientes ancianos se demostró que la odds ratio (OR) de sangrado con dosis de AAS diarias de 75, 150 y 300 mg fue de 2,3, 3,2 y 3,9 respectivamente (305). Datos obtenidos del estudio CURE (*Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events*) confirman que el uso de AAS en dosis crecientes entre 75 y 325 mg/día no aporta ningún beneficio cardiovascular y sí un aumento del riesgo de sangrado (309). De este modo, la dosis habitual de AAS usada tanto en prevención primaria como secundaria de eventos cardiovasculares, es de 75-150 mg/día, puesto que es la que proporciona un mejor balance riesgo/beneficio (310).

Además, hay evidencia de que el riesgo de eventos GI no se reduce a pesar del uso de cápsulas con recubrimiento entérico, ya que como hemos mencionado previamente el efecto deletéreo GI de AAS se debe en parte a un efecto sistémico y no solamente a un daño directo de la mucosa gástrica (311,312).

Sin embargo, el clopidogrel no causa un daño directo en la mucosa gástrica sino que altera y retrasa la cicatrización de las erosiones y úlceras gástricas ya existentes. Este fármaco inhibe la liberación de factores de crecimiento pro-angiogénicos por parte de las plaquetas, los cuales se sabe que tienen un papel fundamental en la reparación de las erosiones de la mucosa. Esto, unido a la presencia de ácido gástrico, la infección por *Helicobacter pylori* o la administración de antiinflamatorios no esteroideos como la AAS, puede llevar a la formación de úlceras gástricas clínicamente significativas y a la aparición de complicaciones hemorrágicas GI relacionadas (296).

Las guías americanas de cardiología (ACC/AHA) recomiendan el uso de clopidogrel para aquellos pacientes que han tenido un evento coronario agudo y no pueden ser tratados con AAS por complicaciones GI mayores (recomendación

clase I con nivel de evidencia A). Esta indicación se basa en los resultados del estudio CAPRIE (*Clopidogrel Versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events*) donde se comparó el tratamiento con clopidogrel 75 mg/día versus AAS 325 mg/día en pacientes con enfermedad aterosclerótica previa (ictus, IAM o vasculopatía periférica) (313). En este estudio se objetivó que la incidencia de sangrados GI mayores fue inferior en el grupo tratado con clopidogrel que en el tratado con AAS. Sin embargo, posteriormente, en un estudio de casos y controles se ha demostrado que el clopidogrel tenía un riesgo de sangrado GI muy similar a dosis de AAS de 100 mg/día (314). Además, un ensayo clínico doble ciego y randomizado demostró una mayor tasa de eventos GI en el grupo de clopidogrel respecto al de AAS junto con un IBP (esomeprazol) (315). Estos datos sugieren que el tratamiento con clopidogrel no es una alternativa al tratamiento con dosis bajas de AAS para la reducción de eventos GI y sin embargo recomendarían el uso de AAS con un IBP.

4.4. Estrategias de prevención del riesgo de sangrado GI asociado a la antiagregación

Con todo lo mencionado anteriormente hay evidencia suficiente para afirmar que el uso de antiagregantes plaquetarios favorece la aparición de complicaciones GI. Dichas complicaciones se pueden reducir suprimiendo la producción de ácido gástrico con fármacos como los ARH2 o los IBP.

Los ARH2 inhiben la producción de ácido gástrico entre un 37% y un 68% durante 24 horas, de manera que administrados a su dosis habitual tienen un efecto protector GI modesto en pacientes que están bajo tratamiento crónico con AAS (316). En un estudio randomizado de 404 pacientes tratados con AAS y con úlcera péptica o esofagitis, el tratamiento con famotidina se asoció a una reducción de la aparición de úlceras GI comparado con placebo (317). Sin embargo, en un ensayo clínico se observó que dosis altas de famotidina son inferiores al pantoprazol en la prevención de recurrencias de úlceras gástricas (292). Así, dado que hay evidencia suficiente de la superioridad de los IBP frente a los ARH2 en la prevención de eventos GI, estos últimos fármacos se consideran sólo una alternativa razonable en pacientes de bajo riesgo de sangrado GI.

Algunos de los ARH2 más utilizados son la cimetidina, la ranitidina y la famotidina.

Los IBP reducen la secreción gástrica hasta 36 horas (318). Hay datos tanto de estudios observacionales como de ensayos clínico randomizados, donde se corrobora que los IBP reducen el riesgo de sangrado GI. En un estudio de casos y controles de pacientes con historia previa de hemorragia GI se observó que el uso de clopidogrel junto con un IBP se asociaba con menos riesgo de sangrado que el uso de clopidogrel sólo (319). En un ensayo clínico realizado en pacientes con enfermedad cardiovascular tratados con AAS y aleatorizados a recibir clopidogrel con o sin un IBP añadido, se observó que los pacientes a los que se les añadía un IBP tenían menos eventos GI (entendido como un objetivo combinado de sangrados ocultos o úlcera o erosión gastroduodenal sintomática) que los pacientes que no lo tomaban (320).

Por este motivo, los IBP están indicados para disminuir el riesgo de hemorragia GI en muchos de los pacientes con enfermedad coronaria tratados con antiagregantes (320,321), aunque no está recomendado su uso de manera rutinaria, sino únicamente en aquellos que tienen algún factor de riesgo añadido para el sangrado GI (322). Cuantos más factores de riesgo de sangrado GI tenga el paciente, más coste-efectivo es añadir un IBP al tratamiento (323). Los factores de riesgo más importantes para el sangrado GI que están resumidos en la Figura 11. La historia de sangrado GI previo o úlcera gástrica complicada es el factor de riesgo más importante para tener una recurrencia de sangrado GI (324). La edad por encima de los 60 años, la infección por *H. Pylori*, el uso concomitante de AINES, corticoides o anticoagulantes son también algunos de los factores de riesgo que favorecen el sangrado GI en pacientes que están tomando de manera crónica antiagregantes (325,326). La terapia con doble antiagregación, que está siendo muy utilizada en el momento actual en los pacientes con cardiopatía isquémica según las recomendaciones de todas las sociedades (299), es otro de los factores de riesgo más importante para la aparición de complicaciones hemorrágicas GI (327). Datos de varios estudios de reconocida importancia como son el CURE (328), el MATCH (*Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in HighRisk Patients*) (329) o el CHARISMA (*Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance*)

(330), confirman la evidencia de que la combinación de AAS y clopidogrel se asocia con un aumento significativo del riesgo de eventos GI mayores comparado con el tratamiento en monoterapia (331). En el primero de ellos por ejemplo, el riesgo relativo de sangrado GI en los pacientes con doble antiagregación es de 1,78 veces más que el de los que están tratados sólo con un antiagregante (328).

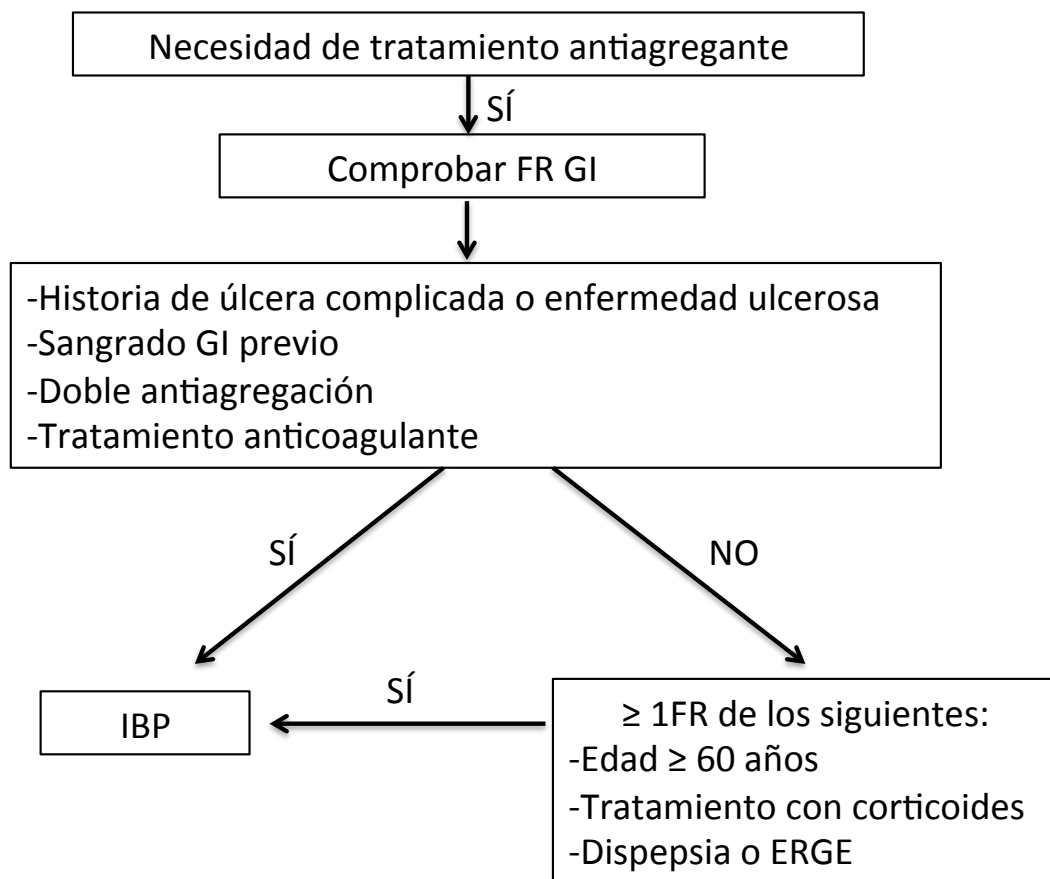


Figura 11: Algoritmo para minimizar el sangrado GI (300). FR: factores de riesgo; GI: gastrointestinal; IBP: inhibidores de la bomba de protones; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico

4.5. Efectos adversos y riesgo cardiovascular de los IBP

Uno de los principales motivos por los que el uso de los IBP se ha extendido a nivel mundial es su excelente tolerancia clínica. Sin embargo, como en la mayoría de los fármacos, existe un creciente número de informes que relacionan su uso crónico con algunos efectos adversos. Entre los más destacados están las fracturas secundarias a osteoporosis, el aumento de las tasas de

neumonía adquirida en la comunidad, la infección y diarrea asociada a *Clostridium difficile*, la nefritis intersticial aguda y el déficit de hierro y vitamina B₁₂ entre otros (291).

Si hablamos del riesgo cardiovascular de los IBP, pensamos rápidamente en uno de los temas más debatidos en los últimos años, que es la interacción entre el clopidogrel y los IBP, especialmente con el omeprazol y su consecuencia clínica: el posible aumento de eventos cardiovasculares en pacientes con enfermedad coronaria debido a la disminución del efecto antiagregante de la AAS (332) y sobre todo del clopidogrel (333,334) al ser administrados junto con un IBP.

En el caso de la AAS, los IBP disminuyen su efecto antiagregante porque alteran su absorción gástrica y biodisponibilidad al inhibir la secreción de ácido gástrico. Esta interacción parece que tiene un efecto clase para todos los IBP puesto que todos ellos afectan al pH gástrico de la misma manera (332,335). El clopidogrel es un profármaco que requiere de la isoenzima CYP2C19 del citocromo P-450 para ser metabolizado en el hígado a su forma activa que es la que tiene propiedades antiagregantes. Esta isoenzima es la misma que utilizan los diferentes IBP (fundamentalmente el omeprazol) para su metabolismo (336), por lo que la administración conjunta de ambos fármacos podría interferir en el efecto antiagregante del clopidogrel. Otras hipótesis que podrían explicar la disminución del efecto antiagregante del clopidogrel son los polimorfismos genéticos de la isoenzima CYP2C19 que pueden disminuir su actividad.

Los test de función plaquetaria han sido utilizados como marcadores subrogados de la efectividad de los fármacos antiplaquetarios. El test estándar es la agregometría pero hay otros más recientes y más específicos en la medición de la inhibición de la agregación plaquetaria como el VASP (*VAsodilator Stimulated Phosphoprotein*) que cuantifica la fosforilación de la fosfoproteína (322). Gilard *et al* demostraron por primera vez en 2006 la reducción de la actividad antiagregante *in vitro* del clopidogrel en pacientes tratados con IBP tras un procedimiento de revascularización coronaria (337). Posteriormente, en 2008, el mismo grupo publicó un ensayo clínico doble ciego y randomizado llamado OCLA (*Omeprazole CLopidogrel Aspirin*) (334) con 124 pacientes a los que se les había implantado un stent coronario y que recibían 75 mg diarios de AAS y de

clopidogrel. Los pacientes aleatorizados a recibir 20 mg diarios de omeprazol durante 7 días conseguían una menor inhibición plaquetaria ya que tenían un índice de reactividad plaquetaria (PRI) (medido por VASP) superior a los del grupo placebo. Para dilucidar si esta interacción era un efecto clase de todos los IBP se llevo a cabo el estudio PACA (*Proton pump inhibitors And Clopidogrel Association*) donde se aleatorizó a 104 pacientes con cardiopatía isquémica crónica tratados con 75 mg diarios de AAS y 150 mg diarios de clopidogrel a recibir 20 mg diarios de omeprazol o pantoprazol. Tras un mes de tratamiento, el PRI medido por VASP era inferior en el grupo de pantoprazol sugiriendo que el pantoprazol altera en menor medida el efecto antitrombótico del clopidogrel, probablemente por ser un inhibidor menos potente del CYP2C19 (338).

Aunque estos estudios farmacodinámicos confirman la posible interacción entre el clopidogrel y los IBP, a día de hoy existen aún datos contradictorios sobre si estas diferencias se traducen en una mayor tasa de eventos cardiovasculares en aquellos pacientes tratados con clopidogrel y un IBP, especialmente omeprazol. El esfuerzo fundamental se ha centrado en dilucidar si esta interacción farmacológica repercute sobre la tasa de eventos isquémicos agudos, ya que la consecuencia de dicha interacción era una reducción de la potencia antiagregante del clopidogrel al ser administrado junto con un IBP. El único ensayo clínico randomizado publicado hasta la fecha que analiza si la interacción descrita entre el clopidogrel y los IBP tiene consecuencias en el desarrollo de eventos cardiovasculares, incluyó a 3.761 pacientes con SCA o que habían sido sometidos a un intervencionismo percutáneo que fueron aleatorizados a recibir 75 mg diarios de clopidogrel con o sin 20 mg diarios de omeprazol. Además, todos los pacientes recibían AAS. No hubo diferencias en el objetivo combinado de eventos cardiovasculares (IAM, ictus, necesidad de revascularización coronaria percutánea o quirúrgica o muerte cardiovascular) entre los dos grupos. Hay que reseñar que este estudio se finalizó antes de lo previsto, que el número de eventos cardiovasculares fue inferior a lo esperado y que los valores del intervalo de confianza para el HR fueron demasiado amplios, por lo que tampoco nos permite descartar con total seguridad que exista una interacción clínica importante entre ambos fármacos (320). En el metanálisis publicado en 2015 por Cardoso *et al* se incluyeron 39 estudios (ensayos clínicos randomizados y estudios

observacionales) con 214.851 pacientes. Un 34,3% de ellos estaban tratados con clopidogrel y omeprazol. En un primer análisis general la tasa de eventos cardiovasculares (muerte de cualquier causa, IAM, trombosis de stent e ictus) era superior en el grupo de pacientes que tomaba los dos fármacos. Pero si se analizaban por separado solamente los pacientes de los ensayos clínicos randomizados y de los estudios donde se había realizado un propensity score, no había diferencias en la tasa de eventos cardiovasculares entre ambos grupos (339). Hay un trabajo publicado que compara estudios considerados de baja calidad con otros considerados de moderada calidad, donde se demuestra la existencia de una relación inversa entre los hallazgos de la interacción entre el clopidogrel y los IBP y la calidad del estudio analizado ($p=0,007$), de tal manera que ninguno de los estudios de moderada calidad objetivó relevancia clínica de esta interacción, mientras que 10 estudios de los considerados de baja calidad si la documentó (340).

Hay menos información en la literatura acerca de los posibles efectos cardiovasculares de los IBP al margen del tratamiento concomitante con clopidogrel, y los datos publicados son en muchos casos contradictorios o al menos no comparables porque las poblaciones de estudio son muy diferentes. En un estudio retrospectivo que incluyó más de 19.000 pacientes que habían sufrido un IAM y estaban tratados con AAS como único fármaco antiagregante, se objetivó que el tratamiento con IBP se asociaba con la aparición de IAM, ictus o muerte de causa cardiovascular. Cuando se realizó un propensity score matcheado con los datos obtenidos, los resultados fueron similares (341).

El uso de IBP se ha asociado con un aumento de mortalidad de cualquier causa al año en una población de 491 pacientes mayores de 65 años que fueron dados de alta de varios hospitales de agudos. Esta asociación se mantuvo tras ajustar por algunas variables que se sabe que son predictoras de eventos adversos en la población anciana como pueden ser la edad, el deterioro cognitivo, las comorbilidades, la situación nutricional y el tipo y número de fármacos prescritos. Sin embargo, en este estudio, no se encontró relación de los IBP con el objetivo combinado de muerte o reingreso (342).

En la misma dirección están los resultados de otro estudio donde los IBP también se asocian con un aumento de mortalidad al año en dos de las tres

cohortes de pacientes institucionalizados. Los pacientes de hospitales de cuidados prolongados que tomaban IBP tenían 1,36 veces más riesgo de mortalidad que los pacientes que no los tomaban. Los pacientes de los centros de geriatría que tomaban IBP tenían 1,9 veces más riesgo de mortalidad que los que no los tomaban (343).

Estudios realizados *in vitro* demuestran que el pantoprazol tiene un efecto inotrópico negativo sobre el miocardio tanto de seres humanos como de conejos. El mecanismo que explica este efecto no es la acidosis celular que cabe esperar como consecuencia de la inhibición de la secreción ácida gástrica a través de la ATPasa H^+/K^+ , ya que se ha visto que el pH intracelular no se modifica. Se han descrito dos posibles mecanismos por los que el pantoprazol puede disminuir la velocidad de acortamiento del miocito cardíaco: 1) la reducción de la concentración de calcio intracelular por la disminución de la captación de calcio por el retículo sarcoplásmico y de la corriente de calcio de larga duración o tipo L ($I_{Ca,L}$) y 2) una disminución de la capacidad de respuesta al calcio de los miofilamentos (344). Se ha visto que el esomeprazol (344) y el omeprazol (345) tienen también efectos similares, por lo que parece tratarse de un efecto clase de los IBP. Con estos resultados cabría esperar que el tratamiento con IBP empeorase el pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardíaca como consecuencia de ese efecto inotrópico negativo en el miocardio, sin embargo, Oudit *et al* no encontraron asociación entre la mortalidad al año y el uso de IBP en una población de pacientes mayores de 65 años diagnosticados de insuficiencia cardíaca (OR=0,88; IC 95%=0,77-1,01) (346).

También hay resultados contradictorios en cuanto a si esta depresión de la contractilidad miocárdica demostrada *in vitro* se traduce en una disminución de la fracción de eyección. En un estudio randomizado realizado en 18 voluntarios sanos, dosis altas de pantoprazol intravenoso no modificaron de manera significativa la fracción de eyección del ventrículo izquierdo medida por ecocardiografía. Tampoco hubo cambios significativos de otros parámetros hemodinámicos medidos como el gasto cardíaco, índice cardíaco, PA o frecuencia cardíaca (347). Sin embargo, otro estudio demostró que el tratamiento crónico con IBP en pacientes con angina estable se asociaba a una reducción de la fracción de eyección y a un aumento del volumen telesistólico del ventrículo izquierdo (348).

En síntesis, aunque los IBP son beneficiosos en pacientes tratados con doble antiagregación, hay datos que sugieren efectos adversos incluyendo la potencial interacción con el clopidogrel y la afectación miocárdica. Sin embargo, los datos no son consistentes y justifican una profundización en este área.

5. Recapitulación

La enfermedad coronaria tiene un enorme impacto en nuestro medio por su gran incidencia, la morbimortalidad que asocia y la ingente cantidad de recursos de todos los órdenes que consume. Aunque en los últimos años se ha conseguido mejorar en gran medida el tratamiento y el pronóstico de dicha enfermedad, el aumento de supervivencia de nuestros pacientes hace que en el momento actual haya una gran prevalencia de personas con enfermedad coronaria crónica.

El papel que los FRCV clásicos tienen en el desarrollo de la enfermedad coronaria está bien establecido a día de hoy. Sin embargo sabemos que dichos factores no explican el 100% de la enfermedad y que hay un pequeño grupo de pacientes con enfermedad coronaria que no tienen ningún FRCV. Es por eso que la investigación avanza en sentido de encontrar nuevos marcadores de riesgo cardiovascular, entre ellos los biomarcadores de inflamación y alteraciones de ciertos componentes del metabolismo mineral, ya que en los últimos años se ha visto que estas alteraciones se asocian a daño cardiovascular. Entre otras cosas, desconocemos si hay alguna diferencia entre los pacientes con y sin factores de riesgo coronario clásicos en el perfil de biomarcadores tanto de inflamación como de metabolismo mineral y si esa diferencia podría influir en el pronóstico de dichos pacientes.

Por otro lado uno de los grupos farmacológicos más utilizados en las últimas décadas, sobre todo en pacientes tratados con antiagregación, son los IBP. Hay datos discordantes en la literatura sobre si el tratamiento crónico con dichos fármacos influye en el pronóstico cardiovascular de los pacientes con enfermedad coronaria.

Por estas razones en esta Tesis hemos estudiado una población de pacientes con enfermedad coronaria crónica para analizar si hay diferencias en el perfil de biomarcadores de inflamación y del metabolismo mineral entre los pacientes que presentan FRCV y aquellos que no los tienen y si estas diferencias se traducen en un pronóstico diferente a medio plazo. Por último, debido a que la prescripción de IBP en pacientes con cardiopatía isquémica crónica es muy frecuente, y dado el debate existente, consideramos importante conocer si el tratamiento crónico con estos fármacos se asocia a la aparición de eventos adversos en estos pacientes.

Hipótesis

1. Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular clásicos, tendrían un perfil de biomarcadores pronósticos de enfermedad coronaria más favorable que los pacientes con factores de riesgo, con niveles plasmáticos más bajos de los marcadores inflamatorios PCR de alta sensibilidad y MCP-1. Se examinará si el NT-ProBNP y la galectina-3 presentan la misma variación.
2. De igual manera, los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular clásicos, tendrían un perfil de marcadores del metabolismo mineral más favorable, con niveles plasmáticos más altos de Vitamina D y más bajos de FGF23 que los pacientes con factores de riesgo.
3. Los niveles plasmáticos elevados de PCR de alta sensibilidad, MCP-1 y FGF23 y disminuidos de Vitamina D son predictores independientes de eventos cardiovasculares adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
4. Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular clásicos, tienen menos eventos adversos (eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte) que los que sí los presentan.
5. En pacientes con cardiopatía isquémica crónica el uso de IBP es un predictor independiente del objetivo principal compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte.

Objetivos

1. Analizar si los pacientes con cardiopatía isquémica crónica y sin factores de riesgo cardiovascular clásicos tienen un perfil diferente de biomarcadores pronósticos de enfermedad coronaria (MCP-1, PCR de alta sensibilidad, NT-ProBNP y galectina-3) que los pacientes con factores de riesgo.
2. Analizar si los pacientes con cardiopatía isquémica crónica y sin factores de riesgo cardiovascular clásicos tienen un perfil de marcadores del metabolismo mineral distinto que los pacientes con factores de riesgo cardiovascular clásicos.
3. Estudiar si los niveles plasmáticos elevados de PCR de alta sensibilidad, MCP-1 y FGF23 y disminuidos de Vitamina D son predictores independientes de eventos cardiovasculares adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
4. Estudiar si existen diferencias en el número de eventos adversos (eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte) entre los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular y los que sí los tienen.
5. Estudiar si en pacientes con cardiopatía isquémica crónica el uso de IBP es un predictor independiente del objetivo principal compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte.

Material y métodos

1. Tipo de estudio

Se trata de un estudio de cohortes observacional y prospectivo. Esta Tesis consta de dos subestudios derivados del inicial. El primero de ellos está formado por una cohorte de pacientes con FRCV y otra cohorte de pacientes sin FRCV. El segundo subestudio está formado por una cohorte de pacientes tratados con IBP y otra cohorte sin este tratamiento.

2. Población de estudio

2.1. Estudios BACS & BAMI

Los estudios BACS & BAMI (*Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction*) incluyeron pacientes ingresados en cuatro hospitales de Madrid (Fundación Jiménez Díaz, Hospital de Fuenlabrada, Hospital de Móstoles y Hospital de Alcorcón), ya fuese con SCASEST o con Infarto agudo de miocardio con elevación del ST (IAMCEST). El SCASEST se definió como angina de pecho de reposo que dura más de 20 minutos en las últimas 24 horas, o aparición de angina de esfuerzo en clase funcional III-IV, junto con depresión transitoria del ST o inversión de la onda T en el electrocardiograma validado por un cardiólogo y/o elevación de troponina. IAMCEST se definió como síntomas compatibles con angina durante más de 20 minutos junto a elevación del segmento ST en dos derivaciones contiguas en el electrocardiograma sin respuesta a la nitroglicerina y con elevación posterior de troponina.

Los criterios de exclusión fueron: edad mayor de 85 años, coexistencia de otros trastornos cardiacos significativos excepto HVI secundaria a HTA, coexistencia de cualquier enfermedad o hábitos tóxicos que pudiera limitar la supervivencia del paciente, imposibilidad de efectuar la revascularización en caso de indicación, complicaciones del cuadro con estancia hospitalaria superior a 6

días y aquellos sujetos en los que el seguimiento no era posible. Inicialmente, en la visita de inclusión antes del alta hospitalaria del paciente, se registraron numerosas variables clínicas y analíticas. Además se extrajeron en tubos de EDTA las muestras de sangre venosa con 12 horas de ayuno para el análisis de los biomarcadores. Las muestras de sangre se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos y el plasma se almacenó a -80°C.

Posteriormente, en una segunda visita ambulatoria a los 6 meses, en fase estable del paciente, se recogen las mismas variables y muestras de sangre y se realizó el mismo procedimiento.

2.2. Pacientes analizados para estudio de biomarcadores e IBP

Estos dos subestudios se basan en los hallazgos clínicos y analíticos obtenidos en el momento de la segunda visita ambulatoria y posterior seguimiento. Dicha visita ambulatoria y la extracción de plasma tuvieron lugar entre enero de 2007 y febrero de 2011. Las últimas visitas de seguimiento fueron llevadas a cabo en mayo de 2012.

Entre julio de 2006 y abril de 2010, 1.898 pacientes fueron dados de alta de los hospitales del estudio con el diagnóstico de SCASEST o IAMCEST. Ochocientos treinta y ocho pacientes fueron incluidos en el estudio. El resto de los pacientes no fueron incluidos debido a las siguientes razones: edad mayor de 85 años (17,3%), presencia de comorbilidades o hábitos tóxicos que limitaran la supervivencia (29,0%), imposibilidad de realizar revascularización cardíaca (14,5%), coexistencia de otra cardiopatía significativa (6,8%), imposibilidad de realizar el seguimiento (12,0%), presencia de inestabilidad clínica más allá del sexto día después del evento inicial (9,1%), negativa del paciente a participar en el estudio (2,0%) e imposibilidad de incluirlos por parte de los investigadores (9,3%). De los 838 pacientes incluidos en la fase aguda, 7 murieron antes de la segunda visita y 120 pacientes no acudieron a dicha visita. Por tanto, en el primer subestudio 709 pacientes tenían muestras adecuadas de plasma extraídas entre seis y doce meses después de ser dados de alta y en el segundo subestudio que presentamos, 711 pacientes tenían dichas muestras de plasma. Esta diferencia de dos pacientes entre ambos subestudios se debe a que hubo problemas técnicos de

laboratorio con las muestras de dichos pacientes al analizar los marcadores del metabolismo mineral. Cinco pacientes se perdieron en el seguimiento clínico por lo que finalmente quedaron 704 pacientes para el análisis en el primer subestudio y 706 en el segundo.

El seguimiento de los pacientes fue anual y se llevó a cabo en sus respectivos hospitales. Al final del seguimiento (máximo 4,6 años) se revisaron las historias clínicas y se confirmó el estado del paciente mediante contacto telefónico.

3. Declaración ética

El protocolo de investigación se ajusta a las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 y fue aprobado previamente por los comités éticos de investigación en humanos en los centros participantes en este estudio. Todos los pacientes firmaron el documento de consentimiento informado antes de iniciar el estudio.

4. Estudios analíticos y biomarcadores empleados

Las determinaciones analíticas de plasma se realizaron en el laboratorio de Nefrología del Hospital Gómez-Ulla y en el Laboratorio de Bioquímica de la Fundación Jiménez Díaz. Los investigadores que realizaron los estudios de laboratorio no tenían conocimiento de los datos clínicos.

Las determinaciones de lípidos, de glucosa, de calcio, de albumina y de creatinina fueron realizadas por métodos estándar (ADVIA 2400, Siemens, Alemania).

Los niveles de PCR de alta sensibilidad se evaluaron mediante un análisis de inmunturbidimetría látex mejorada (ADVIA 2400 Chemistry, Siemens, Alemania). Se midieron por duplicado los niveles plasmáticos de MCP-1 y Galectina-3 con kits de ELISA disponibles comercialmente (BMS279/2 Bender MedSystems, and DCP00, R&D Systems, respectivamente) siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron 4,6% y 5,9% para MCP-1 y 6,2 y 8,3% para Galectina-3. Los

niveles de NT-pro-BNP se midieron por un test de inmunoensayo (VITROS, Orthoclinical Diagnostics, EEUU).

Los niveles plasmáticos de calcidiol se cuantificaron por inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) en el analizador ENLACE XL (LIAISON 25OH-Vitamin D total Assay DiaSorin, Saluggia, Italy), los de FGF -23 se midieron mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas que reconoce epítomos dentro de la porción carboxilo-terminal del FGF-23 (Human FGF-23, C-Term, Immutopics Inc, San Clemente, CA), los niveles plasmáticos de PTH intacta fueron analizados por un método de segunda generación de quimioluminiscencia automatizado (Elecsys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) y se determinaron los niveles de fosfato mediante un método enzimático (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

5. Variables estudiadas

En nuestro estudio se recogieron diferentes variables, agrupadas por categorías y se introdujeron en una base de datos creada para tal fin.

5.1. Variables demográficas

En este apartado se recogieron las siguientes variables:

- Sexo, como variable binaria
- Edad, como variable cuantitativa
- Raza, como variable cualitativa

5.2. Factores de riesgo cardiovascular clásicos

En este apartado se recogieron como variables binarias:

- Historia documentada de HTA con PA>140/90 mmHg o que el paciente estuviese siendo tratado ya con fármacos antihipertensivos.

- Historia documentada de dislipemia con cifras de LDL > 160 mg/dl y/o TG > 200 mg/dl o que el paciente estuviese siendo ya tratado con fármacos hipolipemiantes en prevención primaria (349).
- Historia documentada de diabetes mellitus tipo 1 o 2 con cifras de glucemia basales > 126 mg/dl o que el paciente estuviese tomando antidiabéticos orales o usando insulina.
- Historia de tabaquismo, pasado o presente.

5.3. Coexistencia de otras enfermedades o antecedentes familiares de aterosclerosis

En este apartado se recogió la presencia de otras comorbilidades estrechamente relacionadas con la patología cardiovascular. Así se obtuvieron datos de:

- Antecedente o no de eventos cerebrovasculares documentados en la historia clínica.
- Presencia o no de EVP documentada en la historia clínica.
- Antecedente o no de historia familiar de aterosclerosis cuando un familiar de primer grado < 60 años tuviese historia de enfermedad coronaria, cerebrovascular o EVP.

5.4. Características y severidad de la cardiopatía

Se recogieron las siguientes variables:

- Cirugía de revascularización coronaria quirúrgica previa (variable binaria).
- Historia de fibrilación auricular (variable binaria).
- Fracción de eyección del ventrículo izquierdo < 40% (variable binaria).
- Datos sobre el último evento coronario que había presentado el paciente: tipo de evento coronario (SCACEST o SCASEST), número de vasos coronarios enfermos, revascularización completa, revascularización percutánea o quirúrgica y uso de stents

farmacoactivos (variables cualitativas, la mayoría de ellas binarias).

5.5. Tratamientos farmacológicos

En cada paciente se recogieron como variables binarias si estaba tomando o no cada uno de los principales grupos farmacológicos utilizados en cardiopatía isquémica así como otros fármacos de uso frecuente en estos pacientes (AAS, clopidogrel, acenocumarol, estatinas, antidiabéticos orales, insulina, IECAs, antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARAI), inhibidores de la aldosterona, betabloqueantes, verapamil, diltiazem, dihidropiridinas, diuréticos, nitratos e IBP).

5.6. Variables de laboratorio

Se recogieron como variables cuantitativas diferentes parámetros del laboratorio: niveles de colesterol total, de LDL, HDL y colesterol no-HDL, TG, glucemia y filtrado glomerular según el método “Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration” (CKD-EPI).

5.7. Biomarcadores

Se recogieron en cada paciente como variables cuantitativas los niveles plasmáticos de galectina-3, PCR de alta sensibilidad, MCP-1, NT-ProBNP, calcidiol, FGF23, PTH y fosfato.

5.8. Variables resultado

En este apartado se recogió como objetivo primario la ocurrencia de algún evento adverso considerando este como un combinado de un evento isquémico agudo (SCASEST, SCACEST, accidente cerebrovascular y ataque isquémico transitorio), un episodio de insuficiencia cardíaca o muerte por cualquier causa. Se

consideraron, además, los eventos isquémicos agudos y el objetivo de IC o muerte como objetivos secundarios.

- El SCASEST y SCACEST fueron definidos como hemos explicado con anterioridad. El diagnóstico de infarto de miocardio pasado fue realizado con la aparición de nuevas ondas Q patológicas en el electrocardiograma, junto con la aparición de una nueva cicatriz miocárdica concordante ya fuese por ecocardiografía o resonancia magnética nuclear.
- El accidente cerebrovascular se definió como la rápida aparición de un déficit neurológico atribuible a una causa vascular focal de más de 24 horas o con aparición de nuevas lesiones isquémicas cerebrales en los estudios de imagen.
- El ataque isquémico transitorio se definió como un accidente cerebrovascular con signos y síntomas y resolución antes de 24 horas y ausencia de lesiones cerebrales isquémicas agudas en las técnicas de imagen.
- La insuficiencia cardíaca fue diagnosticada de acuerdo a las guías de práctica clínica (254).

Los eventos fueron corroborados por al menos dos investigadores del estudio, junto con un neurólogo cuando se trataba de eventos cerebrovasculares. Aunque se registraron todos los eventos, los pacientes fueron excluidos del análisis de regresión de Cox después de desarrollar el primer evento. Por lo tanto, aunque se describe el número total de eventos, aquellos pacientes que tenían más de un evento fueron contabilizados una sola vez para estos análisis.

6. Análisis estadístico

Los datos cuantitativos que siguieron una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov) se presentan como media \pm desviación estándar y se compararon mediante el test de la T de Student. Los que no siguieron una distribución normal se muestran como mediana (rango intercuartil) y se compararon con la prueba de Mann-Whitney. Las variables cualitativas se muestran

como porcentajes y se compararon mediante χ^2 o el test exacto de Fisher, según correspondiera.

Se utilizaron las curvas de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank para comparar el tiempo hasta el objetivo primario o secundario en función de la presencia o no de FRCV y del tratamiento con IBP.

Se utilizó el modelo de riesgos proporcionales de Cox para evaluar las variables asociadas tanto al objetivo primario como a los secundarios. El modelo de Cox testaba variables automáticamente introduciendo en el modelo las que tenían $p < 0,05$ y retirando aquellas que presentaban $p > 0,10$.

En el primer subestudio que presentamos donde se analizan las características de los pacientes con y sin FRCV, se incluyeron todas las variables que se muestran en la Tabla 1. En el segundo subestudio, el referido a los pacientes tratados con IBP, se realizaron dos modelos. En el modelo 1 se incluyeron variables clínicas (edad, sexo, diabetes mellitus, tabaquismo, HTA, IMC, eventos cerebrovasculares previos, historia de EVP, fibrilación auricular, cirugía previa de revascularización coronaria, fracción de eyección $< 40\%$, tipo del último evento coronario agudo, número de vasos coronarios enfermos, revascularización percutánea o quirúrgica, uso de stents farmacoactivos y revascularización completa en dicho evento) y analíticas (LDL, HDL, TG, filtrado glomerular, PCR de alta sensibilidad). En el modelo 2 se añadieron también el tratamiento farmacológico de los pacientes, incluyendo los IBP (AAS, clopidogrel, estatinas, acenocumarol, IECAs, ARAII, betabloqueantes, nitratos y diuréticos).

En el subestudio de los IBP, y con el fin de evitar el sesgo de un estudio observacional no randomizado, se realizó también un propensity score mediante un modelo de regresión logística multivariante en dos pasos. En el primero de ellos se incluyeron variables clínicas (edad, sexo, raza, diabetes mellitus, tabaquismo, HTA, IMC, eventos cerebrovasculares previos, EVP previa, fibrilación auricular, cirugía de revascularización coronaria previa y fracción de eyección $< 40\%$). En el segundo paso se añadieron los tratamientos farmacológicos (AAS, clopidogrel, estatinas, acenocumarol, IECAs, ARAII, betabloqueantes, nitratos y diuréticos). Los dos propensity score fueron usados en un modelo de riesgos proporcionales de Cox junto con el tratamiento con IBP. Así obtuvimos el HR ajustado por propensity score con su intervalo de confianza al 95% y su valor de “ p ”.

Los análisis se realizaron con SPSS 19.0 [SPSS Inc., Nueva York y “ 3.0.1 (www.r.project.org)], y se consideraron significativos cuando el valor de la “p” fue inferior a 0,05 (dos colas).

Resultados

1. Análisis de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función de la presencia o ausencia de factores de riesgo cardiovascular

1.1. Características basales de la población

De los 704 pacientes incluidos en nuestro estudio, solamente 20 (2,8%) no presentaban ninguno de los FRCV clásicos. Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 1. De ellos, el 40% eran mujeres. La edad fue similar en ambos grupos y no hubo diferencias que resultasen estadísticamente significativas en las variables clínicas, a excepción del tratamiento con fármacos antidiabéticos orales que, como era de esperar, fue más frecuente en el grupo que tenía algún FRCV (18,3% vs. 0%; $p=0,034$).

En cuanto a las variables de laboratorio, los niveles plasmáticos de glucosa y TG fueron más bajos en el grupo de pacientes que no presentaban ningún FRCV ($93,7\pm 18,30$ mg/dl vs. $109,6\pm 36,99$ mg/dl; $p=0,001$ para la glucemia y $95,5\pm 40,3$ mg/dl vs. $132,1\pm 83,6$ mg/dl; $p<0,001$ para los TG). Los niveles de colesterol HDL fueron más altos en el grupo de pacientes sin FRCV ($50,3\pm 11,7$ mg/dl vs. $43,6\pm 10,8$ mg/dl; $p=0,007$).

El estudio de biomarcadores inflamatorios mostró niveles de hs-PCR y MCP-1 inferiores en el grupo de pacientes sin FRCV ($2,57\pm 3,12$ mg/L vs. $4,55\pm 9,79$ mg/L; $p=0,018$ para la hs-PCR y $114,75\pm 36,29$ pg/ml vs. $143,56\pm 65,37$ pg/ml; $p=0,003$ para el MCP-1).

En el análisis de los componentes de metabolismo mineral los niveles de FGF23 fueron inferiores en el grupo de pacientes sin FRCV ($79,28\pm 40,22$ RU/ml vs. $105,17\pm 156,61$ RU/ml; $p=0,024$), mientras que los niveles plasmáticos de calcidiol fueron más altos en dicho grupo ($23,66\pm 9,12$ ng/ml vs. $19,49\pm 8,18$ ng/ml; $p=0,025$). No se observaron diferencias en el resto de biomarcadores estudiados (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los pacientes con y sin factores de riesgo cardiovascular.

CARACTERÍSTICAS	PACIENTES SIN FRCV (N=20)	PACIENTES CON FRCV (N=684)	P	PACIENTES CON FRCV (N=40)*	P†
Edad (años)	63,45±11,92	61,35±12,28	0,450	64,58±7,75	0,704
Sexo masculino (%)	60,0	75,7	0,118	60,0	1,000
Historia familiar de aterosclerosis (%)	20	24,7	0,795	32,5	0,375
Índice de masa corporal (kg/m ²)	28,13±4,09	28,73±4,54	0,557	29,07±5,60	0,511
Eventos cerebrovasculares (%)	0,0	3,5	1,000	2,5	1,000
Enfermedad arterial periférica (%)	0,0	3,9	1,000	2,5	1,000
Cirugía de revascularización coronaria previa (%)	5,0	8,5	1,000	12,5	0,653
Fibrilación auricular (%)	0,0	5,0	0,617	0,0	---
Fracción de eyección <40% (%)	15,0	11,7	0,721	12,5	1,000
Aspirina (%)	100,0	91,7	0,396	90,0	0,291
Clopidogrel (%)	75,0	67,5	0,630	70,0	0,769
Acenocumarol (%)	0,0	6,0	0,623	2,5	1,000
Estatinas (%)	95,0	87,4	0,495	87,5	0,653
Antidiabéticos orales (%)	0,0	18,3	0,034	10,0	0,291
Insulina (%)	0,0	6,6	0,632	2,5	1,000
IECAS/ARA-II (%)	60,0	70,6	0,325	72,5	0,384
Inhibidores de la aldosterona (%)	10,0	5,7	0,327	0,0	0,107
Betabloqueantes (%)	70,0	76,6	0,592	77,5	0,542
Verapamilo (%)	0,0	0,4	1,000	0,0	---
Diltiazem (%)	0,0	3,4	1,000	5,0	0,548
Dihidropiridinas (%)	10,0	16,8	0,554	22,5	0,307
DATOS DEL EVENTO CORONARIO AGUDO PREVIO					
Revascularización completa (%)	70,0	65,2	0,770	65,0	0,750
Número de vasos coronarios enfermos ‡			0,439		0,230
0 (%)	10,0	9,6		10,0	
1 (%)	65,0	52,2		40,0	
2 (%)	25,0	25,1		37,5	
3 (%)	0,0	10,8		10,0	
DATOS ANALÍTICOS					
Colesterol total (mg/dl)	148,5±23,7	153,3±34,5	0,536	160,7±41,8	0,156
Colesterol LDL (mg/dl)	79,15±21,34	83,27±25,77	0,479	89,90±32,17	0,182
Colesterol HDL (mg/dl)	50,25±11,69	43,63±10,81	0,007	48,45±12,68	0,597
Colesterol no-HDL (mg/dl)	98,25±23,48	109,25±31,12	0,118	112,22±34,06	0,105
Triglicéridos (mg/dl)	95,50±40,25	132,10±83,57	<0,001	111,48±43,36	0,174
Glucemia (mg/dl)	93,7±18,30	109,59±36,99	0,001	113,6±32,1	0,004
FGR (ml/min/1,73 m ²) [§]	74,77±14,35	75,87±19,26	0,799	71,78±17,04	0,462
Galectina-3 (ng/ml)	7,80 (5,60-9,37)	7,79 (6,02-9,76)	0,815	8,49 (6,62-10,06)	0,355
Proteína C reactiva de alta sensibilidad (mg/L)	2,57±3,12	4,55±9,79	0,018	3,91±5,12	0,215
Calcidiol (ng/ml)	23,66±9,12	19,49±8,18	0,025	18,67±7,06	0,023
FGF-23 (RU/ml)	79,28±40,22	105,17±156,61	0,024	86,68±29,64	0,438
MCP-1 (pg/ml)	114,75±36,29	143,56±65,37	0,003	158,32±72,66	0,003
NT-ProBNP (pg/ml)	199,5 (105,8-269,3)	167,0 (87,6-419,0)	0,988	203 (96,4, 464,5)	0,583
PTH (pg/ml)	69,45±30,96	65,52±31,92	0,587	66,23±32,44	0,714
Fósforo (mg/dl)	3,28±0,61	3,25±1,34	0,874	3,34±0,48	0,424

Tabla 1. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes, las variables cuantitativas con distribución normal como media ± DS y aquellas con distribución no normal como mediana (rango de intercuartiles). ARAII: Antagonista de los receptores de la angiotensina II; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGR: Filtrado glomerular renal; FRCV: Factores de riesgo cardiovascular; HDL: High-density lipoprotein; IECAS: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; LDL: Low-density lipoprotein; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; NT-proBNP: N-Terminal probrain natriuretic peptide; PTH: paratohormona;

*Pacientes con FRCV macheados por sexo y edad

† Comparación entre los pacientes con FRCV macheados por sexo y edad y los pacientes sin FRCV

‡100% y 97,7% de los pacientes se hizo coronariografía en el grupo sin y con FRCV respectivamente.

§ Estimado por CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration).

Utilizando el análisis de regresión lineal, se estimó que los niveles plasmáticos de glucemia, HDL-colesterol y TG sólo explicaban hasta el 6% de la variación en los niveles de hs-PCR, MCP-1, FGF23 y calcidiol [$(R^2 = 0,030)$, $(R^2 = 0,001)$, $(R^2 = 0,003)$ y $(R^2 = 0,062)$ respectivamente]. Es decir, las diferencias encontradas en los niveles de estos marcadores entre ambos grupos, podrían no explicarse solamente por los FRCV clásicos.

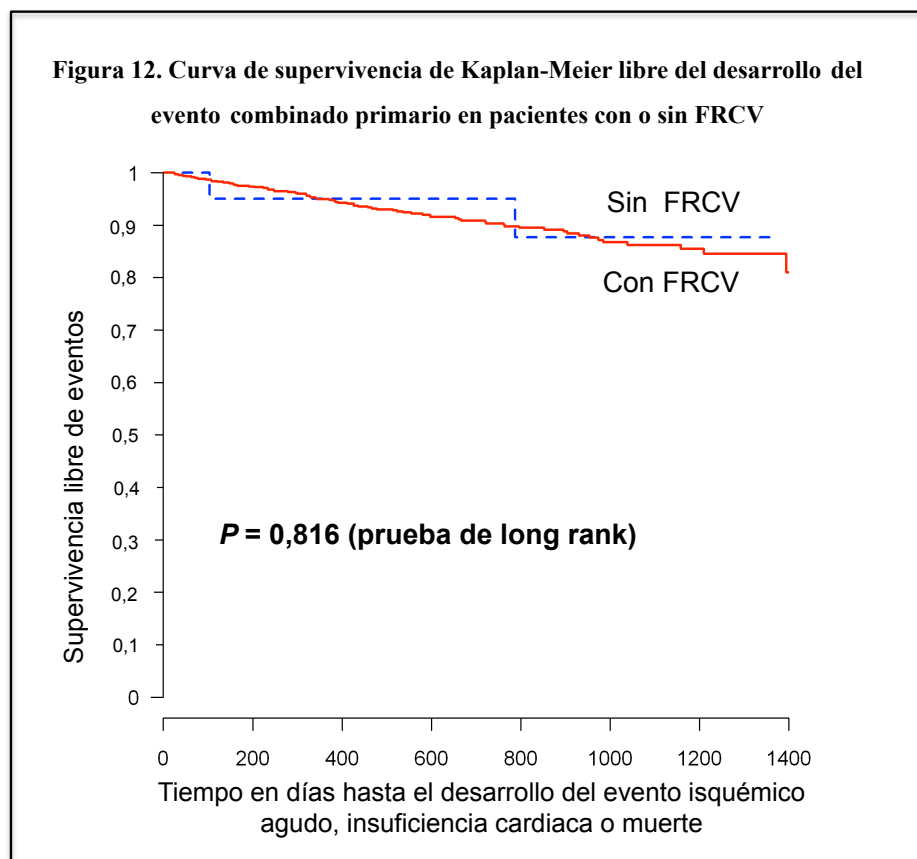
Para intentar corregir el posible sesgo derivado de la gran diferencia de tamaño entre ambos grupos, realizamos un análisis adicional, que incluyó a los 20 pacientes sin FRCV y un grupo control con FRCV ajustando por edad y sexo, con un ratio de 1:2. Los resultados de dicho análisis fueron muy parecidos a los ya descritos con toda la población (Tabla 1). Los pacientes sin FRCV tenían niveles inferiores de glucemia y MCP-1 que los que presentaban algún FRCV ($93,7 \pm 18,3$ mg/dl vs. $113,6 \pm 32,1$ mg/dl; $p=0,004$ y $114,75 \pm 36,29$ pg/ml vs. $158,32 \pm 72,67$ pg/ml; $p=0,003$ respectivamente). Además los niveles de calcidiol eran más altos en el grupo de pacientes sin FRCV ($23,66 \pm 9,12$ ng/ml vs. $18,67 \pm 7,06$ ng/ml; $p=0,023$). Aunque el grupo de pacientes sin FRCV tenían tendencia a tener niveles inferiores de FGF23 y hs-PCR, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, probablemente por tratarse de muestras de pequeño tamaño en ambos grupos. Posiblemente, por este mismo motivo tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento con antidiabéticos orales, niveles plasmáticos de TG y de HDL-colesterol.

1.2. Datos del seguimiento

La media de seguimiento de estos pacientes fue de 2,12 años (1,37-2,98). Durante este tiempo 2 pacientes (10%) del grupo sin FRCV y 75 (10,96%) del grupo con FRCV presentaron el objetivo que estudiamos de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte. De los 2 pacientes en el grupo sin FRCV uno sufrió un accidente cerebrovascular y otro un IAMSEST. En el grupo que no presentaba FRCV clásicos hubo 38 casos de SCASEST, 4 con IAMCEST, 7 accidentes cerebrovasculares, 10 ataques isquémicos transitorios, 16 ingresos por insuficiencia cardíaca y 22

fallecimientos. Doce pacientes desarrollaron dos eventos de los descritos previamente, 5 pacientes experimentaron 3 y el resto tuvieron un evento.

A pesar de que los pacientes sin FRCV tenían tendencia a tener menos eventos adversos que los que sí presentaban FRCV, cuando comparamos ambos grupos no hubo diferencias significativas en las curvas de supervivencia libre de eventos ($p= 0,816$ prueba de log-rank) (Figura 12). Tampoco hubo diferencias al comparar los eventos adversos que ocurrieron en los pacientes sin FRCV con el grupo de 40 pacientes que sí presentaban FRCV con edad y sexo similar ($p=0,789$ prueba de log-rank) (Figura 13).



1.3. Análisis de supervivencia libre de eventos

Todas las variables expuestas en la Tabla 1 se introdujeron en el modelo de análisis multivariado de Cox para conocer si alguna de ellas se comportaba como factor predictor de eventos adversos. En este análisis encontramos que los FRCV no fueron predictores independientes de eventos adversos,

probablemente porque el número de pacientes sin FRCV era muy bajo para permitir ver posibles diferencias en el pronóstico. Sin embargo, los niveles bajos de calcidiol y elevados de MCP-1 y FGF23 sí lo fueron, junto con otras variables clínicas como la edad, el tratamiento con insulina, IECAs o ARA II (Tabla 2).

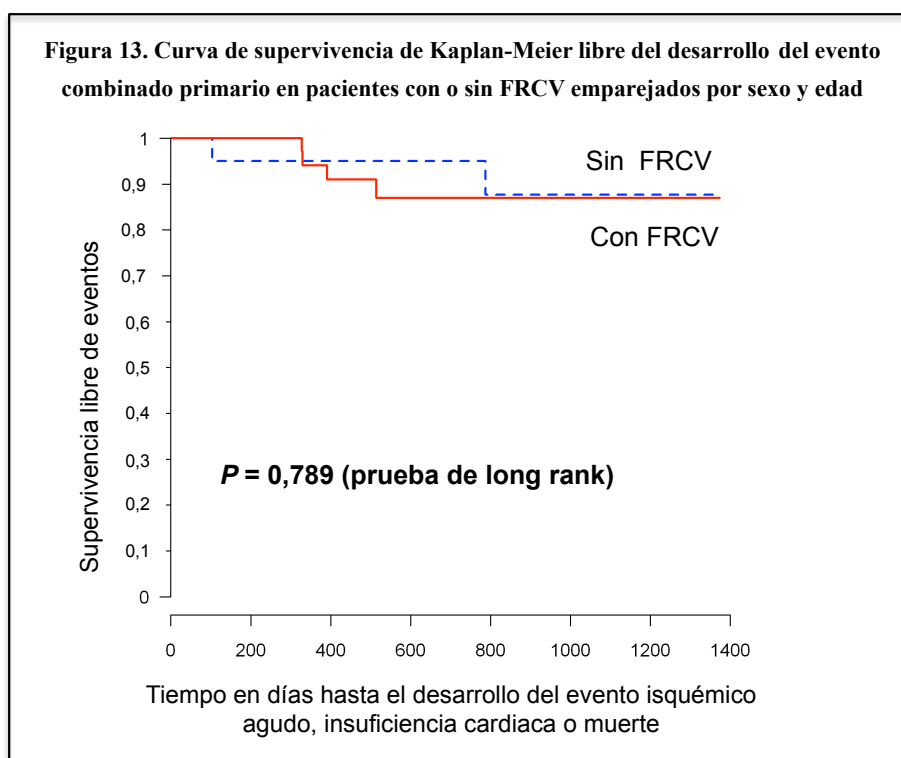


Tabla 2. Análisis multivariado según modelos de Cox para evaluar la incidencia del evento combinado de eventos isquémicos agudos (síndrome coronario agudo, ictus o accidente isquémico transitorio), muerte de cualquier causa o insuficiencia cardíaca.

	Hazard ratio	IC 95%		P
		Límite inferior	Límite superior	
Edad	1,05	1,03	1,08	<0,001
Insulina	2,52	1,10	5,75	0,028
IECAS/ARAII	0,57	0,34	0,96	0,034
Calcidiol	0,96	0,93	1,00	0,042
MCP-1	1,31*	1,07*	1,60*	0,008
FGF-23	1,11†	1,02†	1,22†	0,023

ARA II: Antagonista de los receptores de la angiotensina II; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; IC: Intervalo de confianza; IECAS: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1.

* Por cada aumento de 100 pg/ml. † Por cada aumento de 100 RU/ml.

2. Análisis de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función del tratamiento con IBP

2.1. Características basales de la población

De los 706 pacientes analizados, 431 (61,0%) estaban recibiendo tratamiento con IBP. La mayoría de ellos, 405 (57,4%) estaban tomando omeprazol, 19 (2,7%) pantoprazol, 6 (0,8%) lansoprazol y tan sólo un paciente (0,1%) tomaba rabeprazol. Había 72 pacientes (10,2%) que estaban siendo tratados con algún ARH2 y el resto, 203 pacientes (28,8%), no tomaban ningún protector gástrico.

Los pacientes que estaban bajo tratamiento con IBP eran mayores y tenían más eventos cerebrovasculares entre sus antecedentes que los pacientes que no tomaban IBP. No encontramos otras diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en las variables clínicas, analíticas o tratamientos farmacológicos estudiados (Tabla 3).

2.2. Datos del seguimiento

La media de seguimiento de estos pacientes fue de $2,2 \pm 0,99$ años. El tiempo medio desde el evento coronario agudo previo antes de la extracción de muestras del plasma y el inicio del seguimiento fue de $7,5 \pm 3,0$ meses.

Hubo un total de 78 pacientes que desarrollaron el objetivo principal de nuestro estudio compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte. De ellos 63 (14,61%) estaban recibiendo tratamiento con IBP y 15 (5,45%) no. Doce pacientes tuvieron 2 eventos, 5 desarrollaron 3 y el resto (61 pacientes) un evento con un total de 100 eventos.

Cincuenta y tres pacientes sufrieron un evento isquémico agudo registrándose éste como objetivo secundario de nuestro estudio. De ellos 42 (9,74%) estaban siendo tratados con IBP y 11 (4%) no. Se registraron 4 casos de SCACEST, 22 de IAM no Q, 17 de angina inestable, 8 ictus y 10 accidentes isquémicos transitorios. Cuatro pacientes tuvieron 2 eventos, dos

Tabla 3. Características de los pacientes con y sin tratamiento con inhibidores de la bomba de protones

CARACTERÍSTICAS BASALES	Pacientes con IBP (N=431)	Pacientes sin IBP (N=275)	P
Edad (años)	62 (53-73)	58 (50-70)	0,003
Sexo masculino (%)	74,5	76,4	0,593
Raza caucásica (%)	97,9	95,6	0,110
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	28,7±4,4	28,8±4,7	0,861
Diabetes mellitus (%)	22,7	24,0	0,715
Tabaquismo activo (%)	5,6	8,0	0,213
Hipertensión arterial (%)	66,8	62,5	0,257
Enfermedad arterial periférica (%)	3,9	3,6	1,000
Eventos cerebrovasculares (%)	4,9	1,1	0,004
Cirugía de revascularización coronaria previa (%)	9,3	6,9	0,329
Fibrilación auricular (%)	3,5	1,6	0,381
Fracción de eyección <40% (%)	11,8	12,0	0,725
TRATAMIENTO MÉDICO			
Aspirina (%)	91,4	92,7	0,573
Clopidogrel (%)	66,8	69,1	0,564
Acenocumarol (%)	6,7	5,1	0,423
Estatinas (%)	87,5	87,6	1,000
IECAs (%)	55,9	54,2	0,698
ARA-II (%)	17,4	14,9	0,406
Betabloqueantes (%)	74,2	79,6	0,103
Nitratos (%)	17,2	16,7	0,918
Diuréticos (%)	21,8	16,0	0,064
DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO AGUDO			
IAMCEST/IAMSEST (%)	39,9/60,1	36,7/63,3	0,428
Número de vasos coronarios enfermos	1,39±0,79	1,35±0,83	0,517
Revascularización completa (%)	6,3	4,7	0,410
Stent farmacoactivo (%)	44,5	50,9	0,105
ICP (%)	74,0	73,5	0,930
DATOS ANALÍTICOS			
Colesterol LDL (mg/dl)	84,3±26,4	81,4±24,3	0,149
Colesterol HDL (mg/dl)	43,7±10,6	44,1±11,4	0,683
Triglicéridos (mg/dl)	129,7±71,3	132,7±98,3	0,640
FGR (ml/min/1,73 m ²)*	75,7±21,7	76,5±18,6	0,600
PCR de alta sensibilidad (mg/L)	4,66±10,39	4,24±8,38	0,569

Tabla 3. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes y las variables cuantitativas como media ± desviación estándar y aquellas con distribución no normal como mediana (rango intercuartílico). ARA-II: Antagonista de los receptores de la angiotensina-II; FGR: Filtrado glomerular renal; HDL: High-density lipoprotein; IAMCEST: Infarto con elevación del segmento ST; IAMSEST: Infarto sin elevación del segmento ST; IBP: Inhibidores de la bomba de protones; ICP: Intervencionismo coronario percutáneo; IECA: Inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina; LDL: Low-density lipoprotein; PCR: Proteína C reactiva.

* Estimado por CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration).

pacientes sufrieron 3 eventos y el resto (47 pacientes) uno.

Además observamos que 33 pacientes fallecieron o presentaron un episodio de insuficiencia cardiaca, recogándose estos datos como objetivo secundario de nuestro trabajo. De ellos 28 pacientes (6,49%) tomaban IBP y 5 (1,81%) no. Hubo 16 episodios de insuficiencia cardiaca y 23 muertes de tal manera que 6 pacientes desarrollaron 2 episodios de insuficiencia cardiaca. Las causas de muerte registradas fueron las siguientes: 9 pacientes fallecieron por causa cardiovascular (3 de ellos con muerte súbita), 4 por neoplasias malignas y hubo un paciente en cada caso que falleció por infección, fracaso renal agudo, osteonecrosis, sangrado GI y pancreatitis respectivamente. En 5 pacientes no pudimos clarificar la causa de la muerte.

En las figuras 14, 15 y 16 se representan las curvas de supervivencia libre del desarrollo del evento primario combinado, de insuficiencia cardiaca o muerte y de eventos isquémicos agudos en pacientes con o sin tratamiento con IBP. Los pacientes que estaban siendo tratados con IBP alcanzaban el objetivo primario combinado y el secundario de insuficiencia cardiaca o muerte más frecuentemente que los pacientes que no tomaban IBP ($p=0,013$, y $p=0,050$ respectivamente; prueba de log-rank), mientras que no había diferencias estadísticamente significativas en cuanto al objetivo secundario de eventos isquémicos agudos ($p= 0,073$).

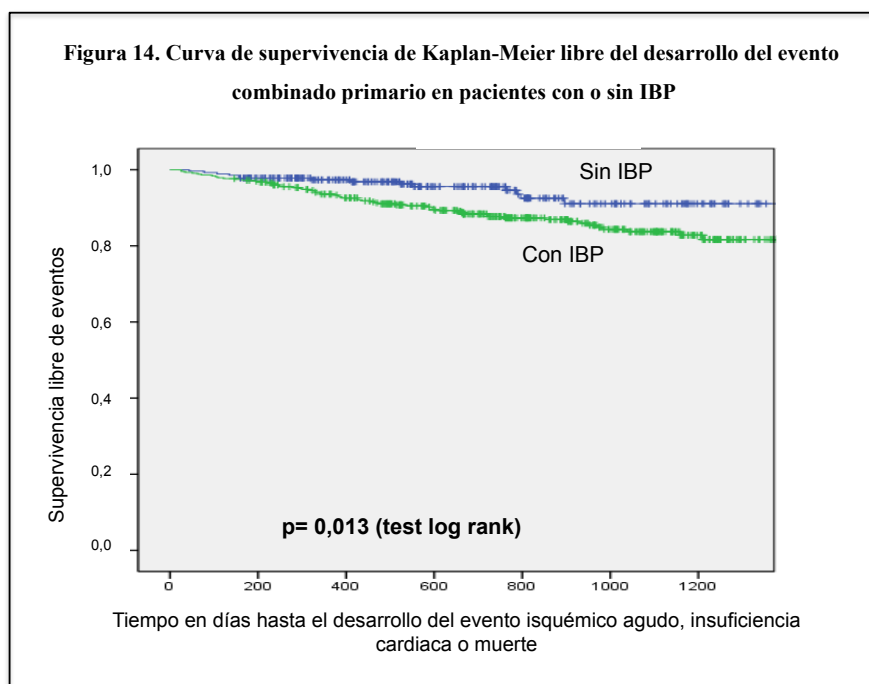


Figura 15. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier libre del desarrollo de insuficiencia cardiaca o muerte con o sin IBP

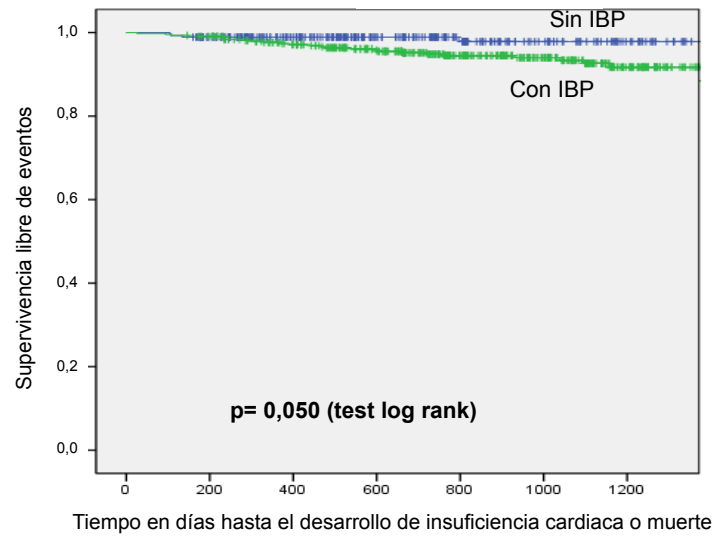
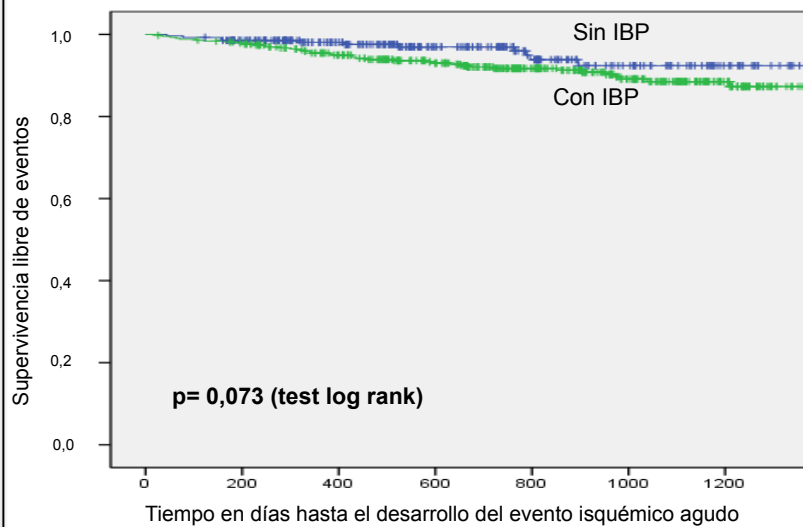


Figura 16. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier libre del desarrollo de eventos isquémicos agudos con o sin IBP



2.3. Análisis de supervivencia libre de eventos

2.3.1. Análisis de Cox multivariado

En el análisis multivariado incluimos todas las variables descritas en la Tabla 3. El tratamiento con IBP fue uno de los predictores independientes del *objetivo primario combinado de eventos isquémicos agudos, insuficiencia*

cardiaca o muerte con un HR de 2,28 (IC 95%: 1,24-4,18) con un valor de p de 0,008.

Además, tal y como se muestra en la Tabla 4, la HTA, la edad, el IMC, el filtrado glomerular estimado, la fibrilación auricular y el tratamiento con nitratos fueron también predictores independientes de dicho objetivo primario.

También se analizó la interacción entre el tratamiento con IBP y el clopidogrel, que no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,463$).

Tabla 4. Análisis multivariado según modelos de Cox para evaluar la incidencia del objetivo primario: eventos isquémicos agudos (síndrome coronario agudo, ictus o accidente isquémico transitorio), insuficiencia cardiaca o muerte.

	Modelo 1				Modelo 2			
	Hazard Ratio	IC 95%		P	Hazard Ratio	IC 95%		P
		Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior	
HTA	2,27	1,11	4,67	0,025	2,53	1,23	5,20	0,011
FA	2,10	1,11	3,98	0,022	2,60	1,39	4,85	0,003
Edad ^a	1,04	1,01	1,06	0,011	---	---	---	---
IMC ^b	1,07	1,02	1,13	0,007	1,06	1,01	1,12	0,029
FGR (CKD-EPI) ^c	0,98	0,97	1,00	0,021	0,97	0,96	0,99	<0,001
Nitratos	---	---	---	---	2,67	1,63	4,38	<0,001
IBP	---	---	---	---	2,28	1,24	4,18	0,008

Modelo 1: Riesgo ajustado por edad, sexo, diabetes mellitus, tabaquismo, HTA, IMC, Colesterol LDL, Colesterol HDL, triglicéridos, enfermedad arterial periférica o eventos cerebrovasculares previos, fibrilación auricular, o cirugía de revascularización coronaria previa; fracción de eyección <40%, filtrado glomerular renal (estimado según el método Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), Proteína C reactiva de alta sensibilidad, tipo del último evento coronario agudo, revascularización percutánea o quirúrgica, revascularización completa, uso de stents farmacoactivos y número de vasos coronarios enfermos. **Modelo 2:** A las variables del modelo 1 se añade el tratamiento con IBP, aspirina, clopidogrel, estatinas, acenocumarol, IECAS, ARA II, diuréticos, betabloqueantes, y nitratos.

ARAI: Antagonista de los receptores de la angiotensina II; FA: Fibrilación auricular; FGR (CKD-EPI): Filtrado glomerular renal calculado según el método Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method; HDL: High-density lipoprotein; HTA: Hipertensión arterial; IBP: Inhibidores de la bomba de protones; IC: Intervalo de confianza; IECAS: Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC: Índice de masa corporal; LDL: Low-density lipoprotein.

^a: hazard ratio estimado por cada aumento de un año. ^b: hazard ratio estimado por cada aumento de 1 kg/m². ^c: hazard ratio estimado por cada aumento de 1 ml/min/1,73m².

En cuanto al análisis del *objetivo secundario de eventos isquémicos agudos*, encontramos que la edad, el IMC y el tratamiento con nitratos eran predictores independientes como se muestra en la Tabla 5. Sin embargo, el tratamiento con IBP no lo fue.

Tabla 5. Análisis multivariado según modelos de Cox para evaluar la incidencia de eventos isquémicos agudos (síndrome coronario agudo, ictus o accidente isquémico transitorio).

	Modelo 1				Modelo 2			
	Hazard ratio	IC 95%		P	Hazard ratio	IC 95%		P
		Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior	
Edad^a	1,05	1,02	1,07	<0,001	1,04	1,02	1,07	0,001
IMC^b	1,11	1,04	1,17	0,001	1,11	1,05	1,17	0,001
Nitratos	---	---	---	---	1,88	1,01	3,53	0,048

Modelo 1 y 2 se han descrito en la Tabla 4.

IMC: índice de masa corporal ; IC: intervalo de confianza

^a : Hazard ratio estimado por cada aumento de 1 año.

^b : Hazard ratio estimado por cada aumento de 1 kg/m².

Finalmente, el tratamiento con IBP fue predictor independiente del *objetivo secundario de insuficiencia cardíaca o muerte* con un HR de 5,71 (IC 95%: 1,63-20,05) y un valor de *p* de 0,007. El resto de variables clínicas y analíticas que también fueron predictores independientes se muestran en la Tabla 6.

2.3.2. Análisis con propensity score

A continuación realizamos un análisis con propensity score en dos pasos. En el primero de ellos, donde sólo incluimos variables clínicas, el tratamiento con IBP aumentaba de manera estadísticamente significativa las incidencias tanto del objetivo primario compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte como del objetivo secundario de insuficiencia cardíaca o muerte (HR=1,91, IC 95%: 1,04-3,52; *p*=0,028 y HR=2,92, IC 95%: 0,87-9,84; *p*=0,050, respectivamente).

Tabla 6. Análisis multivariado según modelos de Cox para evaluar la incidencia insuficiencia cardiaca o muerte.

	Hazard ratio	IC 95%		P	Hazard ratio	IC 95%		P
		Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior	
Fibrilación auricular	3,53	1,51	8,27	0,004	6,88	2,79	17,00	<0,001
Diabetes mellitus	0,61	0,42	0,89	0,010	---	---	---	---
Edad^a	1,06	1,01	1,12	0,016	---	---	---	---
FGR (CKD-EPI)^b	0,96	0,93	0,98	0,001	0,95	0,93	0,97	<0,001
ICP previo	1,52	1,04	2,23	0,031	---	---	---	---
HTA	---	---	---	---	6,44	0,85	48,70	0,071
Nitratos	---	---	---	---	4,55	2,14	9,71	<0,001
IBP	---	---	---	---	5,71	1,63	20,04	0,007
Enf. arterial periférica	---	---	---	---	0,47	0,25	0,87	0,016
LDL	---	---	---	---	0,98	0,97	1,00	0,045

Modelo 1 y 2 se han descrito en la Tabla 4.

FGR (CKD-EPI): Filtrado glomerular renal calculado según el método Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; **HTA:** Hipertensión arterial; **IBP:** Inhibidores de la bomba de protones; **IC:** intervalo de confianza; **ICP:** Intervencionismo coronario percutáneo; **LDL:** Low density lipoprotein.

^a: Hazard ratio estimado por cada aumento de un año.

^b: Hazard ratio estimado por cada aumento de 1 ml/min/1,73m²

En un segundo paso, añadimos los tratamientos farmacológicos y demostramos que el tratamiento con IBP aumenta la incidencia del objetivo primario compuesto (HR=1,94, IC 95%: 1,05-3.58; $p=0.025$), aunque la incidencia del objetivo secundario de insuficiencia cardiaca o muerte perdió la significación estadística (HR=2,77, IC 95%: 0,82-9.37; $p=0,066$).

Discusión

1. Subestudio de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función de los factores de riesgo cardiovascular

La aterosclerosis es la enfermedad cardiovascular más frecuente y la responsable del mayor número de muertes (1). Una de sus principales manifestaciones a nivel coronario es el SCA que, en la mayoría de los casos y como ya hemos explicado previamente, ocurre como consecuencia de la ruptura de la cápsula fibrosa de la placa aterosclerótica y la consiguiente formación de un trombo en la luz del vaso arterial (122,123). En función de si el trombo ocluye de manera total o subtotal la luz del vaso podemos hablar de SCACEST o de SCASEST respectivamente (114,124).

Así, los estudios BACS & BAMÍ incluyeron pacientes que fueron ingresados con cualquiera de esos dos escenarios clínicos en cuatro hospitales de Madrid. A partir de estos dos estudios se ha realizado este trabajo. Los criterios de inclusión y exclusión de los pacientes en estos estudios fueron revisados de manera muy cuidadosa para intentar que se tratase, en la medida de lo posible, de una población homogénea y uniforme. De esta manera, y según hemos descrito en apartados previos, se evitó la inclusión de pacientes con cierta pluripatología o con condiciones médicas que pudiesen interferir en su evolución, en el desarrollo de eventos cardiológicos a medio-largo plazo o dificultar su seguimiento. Por ejemplo, y dado que la edad propiamente dicha se considera un FRCV para el desarrollo de eventos coronarios, consideramos que debían ser excluidos los pacientes mayores de 85 años, ya que por sí mismos tenían un riesgo de eventos cardiológicos lo suficientemente elevado para poder modificar de alguna manera los resultados de nuestro trabajo. Sin embargo, a pesar de intentar homogeneizar la población de estudio desde la selección de los pacientes, somos conscientes de que se han incluido dos formas de enfermedad diferentes: SCASEST y SCACEST, con diferencias tanto en su fisiopatología (114) como en su pronóstico (20). Por ello, el

análisis de los biomarcadores descritos en este trabajo no lo hemos realizado en la fase aguda donde la población de estudio podría ser más heterogénea, sino en la fase crónica o estable de esta patología con el fin de homogenizar la muestra poblacional, ya que en este punto todos los pacientes se pueden catalogar como cardiopatía isquémica crónica.

Hoy en día es bien conocido el papel que los FRCV tienen en la etiopatogenia de la enfermedad coronaria así como la importancia del control de dichos factores tanto en prevención primaria como en prevención secundaria. Además, sabemos que dichos factores no explican el 100% de la enfermedad y que, aunque la mayoría de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica tienen algún FRCV, hay un pequeño grupo de pacientes con enfermedad coronaria clínicamente manifiesta que no tienen ninguno. Sin embargo, clásicamente se ha prestado poca atención a este grupo de pacientes (probablemente por su escaso número) y por tanto se desconoce si hay alguna diferencia relevante en el pronóstico entre dichos pacientes y los que presentan FRCV.

En nuestro estudio tan sólo 20 pacientes de los 704 estudiados, es decir, un 2,8%, no tenían FRCV. Este valor es inferior a lo publicado en otras series donde este porcentaje puede oscilar entre un 10 y un 20% (245). En un análisis realizado en 122.558 pacientes con cardiopatía isquémica incluidos en 14 ensayos clínicos, el 15,4% de las mujeres y 19,4% de los varones no tenían ninguno de los cuatro FRCV clásicos que fueron estudiados (tabaquismo, HTA, DM o hipercolesterolemia) (245). Esta discrepancia entre nuestros datos y los presentados previamente en la literatura se puede explicar de varias maneras. En primer lugar, la prevalencia de los diferentes FRCV en una población de estudio depende, como ya hemos explicado con anterioridad en este trabajo, de la edad y del tipo de población estudiada, entre otros factores (192). En este sentido, en los ensayos clínicos se puede no incluir pacientes que cumplen criterios de inclusión del estudio según decidan los investigadores. Esto puede llevar a un sesgo al evitar incluir pacientes con perfil más grave. Al contrario, en este estudio sólo se excluye un 10% de pacientes por imposibilidad de los investigadores para realizar la inclusión, que es en la mayor parte de los casos, por sobrecarga asistencial de los

misimos. En segundo lugar los valores de corte de los diferentes FRCV utilizados en cada estudio también pueden hacer que los datos obtenidos sean algo diferentes.

En cuanto a la edad, sabemos que se trata de un FRCV independiente (285). En nuestro estudio observamos que la edad media de los pacientes sin FRCV es ligeramente superior a la de los pacientes con FRCV ($63,45 \pm 11,92$ años vs. $61,35 \pm 12,28$ años, respectivamente) aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Esto parece acorde con los hallazgos de estudios previos en los que, si se tienen en cuenta sólo a los varones menores de 55 años y a las mujeres menores de 65 años, el porcentaje de pacientes sin FRCV baja al 10-15% (245). Así, sabemos que la proporción de pacientes con cardiopatía isquémica crónica y sin FRCV aumenta con la edad. Resulta de interés mencionar también que la capacidad pronóstica que tienen los FRCV para determinar la aparición de enfermedad coronaria disminuye con la edad, sugiriendo así que el papel que juegan en el desarrollo de cardiopatía isquémica puede ser más importante en los sujetos jóvenes, mientras que en sujetos de edad más avanzada los marcadores de la inflamación pueden desempeñar un papel no despreciable (350).

El sexo masculino se ha correlacionado también en numerosos estudios con un aumento del riesgo cardiovascular. En nuestro trabajo, al igual que en la mayor parte de estudios publicados en esta área, había más varones que mujeres pero no encontramos diferencias entre ambos sexos en función de la presencia o ausencia de FRCV. En todo caso, no podemos descartar que el escaso número de pacientes sin FRCV de nuestro estudio haya podido influir en estos hallazgos.

En la Tabla 1 se exponen todas las variables clínicas y datos de laboratorio de la población a estudio. Como podemos observar, los dos grupos de pacientes estudiados presentan una distribución muy similar de dichas variables con algunas excepciones que exponemos a continuación.

En cuanto a las variables clínicas, la prevalencia de tratamiento con antidiabéticos orales es mayor en el grupo de pacientes con FRCV (0,0% vs. 18,3%; $p= 0,034$). Esta diferencia parece lógica puesto que los pacientes con diabetes mellitus están incluidos por definición en el grupo de pacientes con

FRCV. Análogamente podríamos pensar que pasaría algo similar con el tratamiento con fármacos hipolipemiantes y antihipertensivos y sin embargo no era así. El porcentaje de pacientes que estaban recibiendo tratamiento con estatinas era muy similar en ambos grupos, ya que dicho tratamiento está recomendado por las sociedades científicas para la práctica totalidad de pacientes con cardiopatía isquémica crónica (310). Algo similar ocurre con los fármacos antihipertensivos; los moduladores del sistema renina-angiotensina-aldosterona están indicados en los pacientes con evidencia clínica de aterosclerosis coronaria sobre todo si presentan disfunción ventricular izquierda como consecuencia de la misma (310). De la misma manera los betabloqueantes han demostrado beneficio en pacientes con antecedentes de IAM (310) y otros fármacos, como los diuréticos, además de ser utilizados como fármacos antihipertensivos, también se recomiendan en otro tipo de patologías como en la insuficiencia cardiaca aguda o crónica (351).

En lo referente a las variables analíticas, como era esperable, los pacientes que no presentaban FRCV tenían niveles más bajos de glucemia y de TG y más altos de colesterol-HDL debido a la propia definición de la diabetes y la dislipemia.

Como ya hemos explicado previamente, sabemos que hay otros factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, además de los clásicos (191). Es por ello por lo que se entiende que haya pacientes con esta patología que puedan no presentar ninguno de los FRCV tradicionales. La inflamación es un proceso que se considera determinante e influye claramente en el desarrollo de la aterosclerosis y favorece la complicación de la placa aterosclerótica (43). Así, en nuestro trabajo hemos analizado como variables algunos de los marcadores de la inflamación que se consideran de mayor importancia en el momento actual. Es más, se sabe que algunos de estos marcadores inflamatorios son predictores de eventos cardiovasculares incluso en pacientes sin FRCV (350).

También los niveles plasmáticos de hsPCR se han asociado con un aumento de eventos cardiovasculares (246). En un estudio realizado en 14.916 varones sanos, se observó que los niveles basales de hsPCR

aumentaban el valor predictivo para el desarrollo de IAM comparándolos con las concentraciones de colesterol total y colesterol HDL (255). Por ejemplo, el RR de IAM para los pacientes que tenían niveles plasmáticos elevados de hsPCR y colesterol total era de 5,2 (IC 95%: 2,5-10,5; $p < 0,001$), cifra superior al riesgo de los pacientes que sólo tenían hsPCR alta (RR=1,4, IC 95%: 0,8-2,3; $p = 0,020$) o bien cifras elevadas de colesterol total (RR=2,1, IC 95%: 1,3-3,4; $p = 0,002$). En nuestro trabajo los pacientes sin FRCV tenían niveles inferiores de hsPCR que los que sí presentaban algún FRCV.

De modo similar, encontramos que los pacientes sin FRCV tenían niveles plasmáticos de MCP-1 inferiores a los que presentaban FRCV. Como ya hemos explicado en apartados anteriores, MCP-1 es la proteína quimioattractante más importante en el proceso aterotrombótico, facilitando la entrada de los macrófagos en la pared arterial (85). Se expresa más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano (86). Algunos de los fármacos que tienen efectos antiateroscleróticos, como por ejemplo las estatinas, disminuyen la expresión de MCP-1 en la pared del vaso (76). Además, se ha confirmado que ésta molécula tiene propiedades procoagulantes (352). De acuerdo con todas estas evidencias, se ha demostrado que los niveles plasmáticos elevados de MCP-1 son predictores del desarrollo de eventos cardiovasculares adversos tanto en pacientes con cardiopatía isquémica crónica como en pacientes con un evento coronario agudo (262,263). En el trabajo publicado por *de Lemos et al.* (262) se midieron los niveles plasmáticos de MCP-1 de 279 voluntarios sanos y de 2.270 pacientes con SCA incluidos en el estudio OPUS-TIMI 16 (*Oral Glycoprotein IIb/IIIa Inhibition with Orbofiban in Patients with Unstable Coronary Syndromes*). Después de ajustar por algunas diferencias en las características basales (cambios electrocardiográficos, niveles de troponina I y PCR entre otras) se observó que niveles de MCP-1 superiores al percentil 75 se asociaban con un mayor riesgo de IAM o muerte a los 10 meses (HR=1,53, IC 95%: 1,09-2,14; $p=0,010$). En un estudio publicado recientemente por nuestro grupo donde se analizaron los niveles de MCP-1 de 706 pacientes con cardiopatía isquémica crónica se demostró que dicho marcador era predictor independiente tanto del desarrollo de eventos

isquémicos agudos (HR=1,44, IC 95%: 1,14-1,82; $p=0,002$) como del objetivo combinado de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardiaca o muerte (HR=1,50, IC 95%: 1,24-1,82; $p < 0,001$) (263).

Aunque clásicamente las alteraciones en el metabolismo mineral se han relacionado con la enfermedad renal, ha sido recientemente cuando se han asociado con la enfermedad cardiovascular. Cuando hay una disminución del filtrado glomerular a nivel renal se reduce la eliminación de fosfato. Para mantener la homeostasis del fosfato, hay un aumento de los niveles plasmáticos de FGF23 y de PTH que inducen fosfaturia. Así, se evitan los efectos cardiovasculares adversos debidos a la hiperfosfatemia (353). Sin embargo, el incremento de FGF23 y de PTH también se asocia a alteraciones del sistema cardiovascular. Se ha visto que los niveles plasmáticos elevados de fosfato, FGF23 y PTH aumentan los eventos cardiovasculares como consecuencia de varios mecanismos: la disfunción endotelial, la rigidez de la pared arterial y la HVI entre otros (284,285,354). Además los niveles plasmáticos elevados de FGF23 reducen los de Vitamina D (285) con lo que aumenta todavía mas el riesgo cardiovascular dado que los niveles bajos de Vitamina D se asocian con disfunción endotelial, inflamación, activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, proliferación de las CML de la pared arterial y calcificación vascular, favoreciendo con todos estos mecanismos el desarrollo de HTA, enfermedad coronaria e ictus (278,279,281,355,356). En nuestra población los pacientes sin FRCV no solamente tenían niveles plasmáticos más bajos de FGF23 sino que también presentaban niveles superiores de calcidiol en comparación con los pacientes con FRCV. Esto es de vital importancia dado que nuestro grupo de trabajo recientemente ha demostrado que la combinación de déficit de Vitamina D junto con aumento de niveles plasmáticos de FGF23 supone un aumento del riesgo cardiovascular. Los pacientes que desarrollaban el evento combinado (eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardiaca o muerte) tenían niveles plasmáticos superiores de FGF23 e inferiores de Vitamina D ($p= 0,004$) (286).

Es posible que exista una relación causal entre la ausencia de FRCV clásicos y el perfil más favorable de marcadores de la inflamación y del

metabolismo mineral que tienen estos pacientes. En ese sentido, la diabetes mellitus se ha asociado con un aumento de la expresión de MCP-1 (357) y sin embargo el HDL tiene el efecto opuesto disminuyendo la expresión de dicha quimioquina (358). Además, la Vitamina D disminuye la secreción de MCP-1 en monocitos U937 “*in vitro*” en presencia de concentraciones elevadas de glucemia (359). Sin embargo, en este trabajo no hemos abordado este tema, de tal manera que se necesitarían más investigaciones en el futuro para dilucidar la relación entre la ausencia de FRCV y el perfil de biomarcadores descrito en este trabajo.

La disminución de los niveles plasmáticos de hsPCR, MCP-1 y FGF23 junto con el aumento de calcidiol parece correlacionarse en los datos de la literatura con un pronóstico más favorable, por lo que sería esperable que los pacientes sin FRCV tengan menos eventos cardiovasculares. Sin embargo, en nuestro trabajo no hemos podido confirmar esta hipótesis puesto que, a pesar de que los pacientes sin FRCV tenían tendencia a tener menos eventos adversos que los que sí presentaban FRCV, cuando comparamos ambos grupos no hubo diferencias significativas en las curvas de supervivencia libre de eventos. Esto último podría deberse al escaso número de pacientes de nuestro estudio que no presentaban FRCV, de manera que para confirmar que dichos pacientes tienen un pronóstico mejor necesitaríamos un tamaño de muestra mucho mayor. Sin embargo, sí demostramos que en la población de estudio, los niveles plasmáticos bajos de calcidiol y elevados de MCP-1 y FGF23 son predictores independientes de eventos, lo cual sugiere que el perfil de biomarcadores de la inflamación y del metabolismo mineral de los pacientes que no presentan FRCV podría estar relacionado con un mejor pronóstico a medio-largo plazo.

1.1. Limitaciones

En este primer subestudio hemos de reconocer las siguientes limitaciones:

- La exclusión de pacientes con inestabilidad clínica durante los primeros días tras el evento coronario agudo, podría suponer un cierto sesgo de selección dado que muy probablemente dichos pacientes

tendrían un pronóstico peor e incluso una distribución algo diferente de los FRCV. Sin embargo sólo el 9,1% de los casos se excluyeron por este motivo.

- El escaso número de pacientes sin FRCV de nuestra población de estudio podría haber limitado la potencia estadística a la hora de evaluar el pronóstico de dichos pacientes. Esto sugiere que son necesarias muestras mucho mayores de pacientes con cardiopatía isquémica para llegar a establecer una conclusión más sólida con respecto a las posibles diferencias en el pronóstico de ambos grupos de pacientes.
- El análisis de los diferentes biomarcadores de la inflamación y del metabolismo mineral no está hecho en el momento del evento coronario agudo del paciente, ya que la población que se incluyó no era homogénea puesto que había pacientes con SCASEST y con SCACEST. El haber analizado dichos biomarcadores en esa fase implicaría mezclar pacientes con dos escenarios clínicos diferentes.

2. Subestudio de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica en función del tratamiento con IBP

Los IBP son fármacos con un potente efecto antsecretor de ácido gástrico como consecuencia del bloqueo irreversible de la bomba de protones ATPasa H^+/K^+ (287). Su eficacia es superior a la de otros antiácidos clásicamente usados, como los ARH₂ (292). En pacientes con cardiopatía isquémica crónica, debido al uso de fármacos antiagregantes, existe un riesgo no despreciable de complicaciones GI, especialmente de sangrado (314,322). Por este motivo, la prescripción de los IBP se ha extendido de manera casi universal en estos pacientes, ya que se ha demostrado ampliamente que su uso disminuye el riesgo de sangrado GI (320).

A pesar de la excelente tolerancia clínica, el uso de IBP no está exento del desarrollo de ciertas complicaciones o efectos secundarios mencionados ya en apartados previos. Así, en este trabajo hemos intentado buscar si existe alguna relación entre la utilización de IBP en pacientes con cardiopatía isquémica crónica y el desarrollo de eventos adversos cardiovasculares.

La distribución de las variables clínicas y datos de laboratorio grupo en el grupo de pacientes tratados con IBP es muy similar a la del grupo que no está recibiendo tratamiento con dichos fármacos. Únicamente encontramos dos excepciones. La primera es que los pacientes tratados con IBP son mayores. Esta diferencia parece lógica puesto que la edad se considera un factor de riesgo propiamente dicho para el sangrado GI (360) y por tanto los pacientes más ancianos deben tomar más frecuentemente IBP para prevenir dichos sangrados. La segunda es que los pacientes tratados con IBP tienen más frecuentemente historia previa de haber tenido un evento cerebrovascular que los no tratados. La tasa de anticoagulación de los primeros es algo superior a la de los segundos, aunque las diferencias no alcanzan la significación estadística. Quizá es por esto por lo que están tratados más frecuentemente con IBP. No obstante, cuando incluimos ambos factores en el análisis multivariable, el tratamiento con IBP seguía siendo un predictor independiente de eventos cardiovasculares adversos. La única excepción fue

que cuando realizamos el propensity score se perdía la significación estadística para el evento combinado de insuficiencia cardíaca o muerte probablemente por el escaso número de pacientes que presentaron dicho evento.

Por lo demás, más del 90% de los pacientes en ambos grupos estaban recibiendo tratamiento con AAS y dos tercios recibían además clopidogrel sin que hayamos objetivado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para estos tratamientos.

Uno de los temas más debatidos en la última década es la posible interacción entre el tratamiento con los IBP y los antiagregantes. En numerosos trabajos se ha sugerido que el tratamiento con IBP podría aumentar la incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes con cardiopatía isquémica crónica debido a la reducción del efecto antiagregante del AAS y principalmente del clopidogrel (323,334,361,362). Como ya hemos explicado previamente, uno de los mecanismos que parece explicar esa interacción, es que los IBP inhiben de manera competitiva el citocromo P450 (CYP2C19), el cual es responsable de la conversión del clopidogrel en su metabolito activo. Por este motivo, en el año 2010 la FDA y la Agencia Europea del Medicamento desaconsejan el uso del clopidogrel junto con el omeprazol (333,363). No obstante, la reducción del efecto antiagregante se ha demostrado sobre todo en estudios farmacodinámicos realizados *in vitro* (335), mientras que los resultados publicados en estudios clínicos son todavía contradictorios (364,365). Lo que sí parece cierto es que no todos los IBP tienen la misma capacidad de inhibición del CYP2C19. Los inhibidores más fuertes son el omeprazol y lansoprazol mientras que el más débil es el pantoprazol (336), que es el recomendado por las sociedades científicas en estos pacientes (366), aunque no existe evidencia clínica de su beneficio (367). No obstante, en este trabajo hemos incluido el pantoprazol como uno más de los IBP no sólo porque entra en esta categoría, sino porque así se ha hecho ya en otros estudios previos (342,343). En nuestro trabajo no encontramos ninguna interacción entre el tratamiento con IBP y el clopidogrel en cuanto al desarrollo del evento combinado primario (eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte).

Sí encontramos en cambio que el uso de los IBP es un predictor independiente de insuficiencia cardiaca o muerte. Aunque no hemos encontrado estudios previos que confirmen esta asociación, sí sabemos que el pantoprazol puede ejercer efectos inotrópicos negativos sobre el miocardio de humanos y conejos (344). Este efecto es, además de dependiente de la dosis del fármaco, parcialmente reversible. Los IBP disminuyen la secreción de ácido gástrico mediante el bloqueo de la bomba ATPasa H^+/K^+ . Dicho bloqueo podría inducir acidosis celular y una depresión secundaria de la contractilidad miocárdica. Sin embargo, este no es el mecanismo de acción por el que el pantoprazol tiene un efecto inotrópico negativo en el miocardio, ya que no se han detectado cambios significativos en el pH intracelular que se mantiene entre 7,3 y 7,4. Se han descrito dos posibles mecanismos que explican la disminución de la contractilidad miocárdica con el pantoprazol (344). El primero de ellos es una disminución transitoria del Ca^{2+} intracelular secundaria a la reducción de la captación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico a través de los canales I_{CaL} . El segundo mecanismo es la reducción de la capacidad de respuesta de los miofilamentos al Ca^{2+} como consecuencia de la disminución de la sensibilidad. Se han obtenido resultados similares con esomeprazol (344) y omeprazol (345), lo que sugiere que este efecto inotrópico negativo es un efecto clase para todos los IBP.

Aunque los resultados de los estudios de laboratorio han sido prometedores, existe controversia en cuanto a los efectos clínicos de los IBP sobre la función miocárdica. En un trabajo publicado por *Schillinger et al* (347), se utilizó la ecocardiografía para medir la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y algunos parámetros hemodinámicos (gasto cardiaco, índice cardiaco, PA y frecuencia cardiaca) en 18 voluntarios sanos. En dicho estudio se observó que la administración de dosis altas de pantoprazol por vía intravenosa no tenía ningún efecto sobre la contractilidad cardiaca en los diferentes parámetros ecocardiográficos estudiados. Sin embargo, *Tanaka et al* (348) demostraron que la administración crónica de lansoprazol en pacientes con angina estable podría estar asociada con una disminución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y un aumento en el volumen telesistólico medidos ambos por angiografía. De cualquier manera los

cambios descritos en ambos parámetros fueron pequeños y probablemente se precisan más estudios para confirmar estos datos.

El aumento de la mortalidad asociada con el uso de IBP que se describe en nuestro trabajo es consistente con los resultados presentados en otros estudios anteriores. En el estudio publicado por *Maggio et al* (342) se analizó el pronóstico de 491 pacientes mayores de 65 años que habían recibido el alta de una unidad de cuidados agudos hospitalaria. Se encontró que el uso de IBP se asociaba de manera independiente con la mortalidad al año de dichos pacientes (HR=1,51, IC 95%: 1,03-2,77; $p=0,03$). Además, dicha asociación se mantenía tras ajustar por ciertas variables predictoras de eventos adversos como podían ser la edad, el deterioro cognitivo, la presencia de comorbilidades y la desnutrición entre otras. En la misma dirección están los resultados publicados en un estudio realizado en tres cohortes de pacientes institucionalizados: hospitales de día, hospitales de larga estancia para pacientes crónicos y residencias de ancianos. En ese trabajo, el uso de IBP se asoció con un aumento de mortalidad al año por cualquier causa en dos de las tres cohortes de los pacientes estudiados (hospitales de larga estancia para crónicos y residencia de ancianos) (343). Resultados similares se observaron en un análisis realizado en dos cohortes de pacientes institucionalizados de edad avanzada (368). En la primera cohorte se trataba de pacientes ingresados en hospitales de larga estancia. La tasa de mortalidad por cualquier causa fue superior en el grupo de pacientes tratados con IBP que en el resto (33,3% vs. 26,6% respectivamente; $p=0,048$) y los IBP se asociaron con un aumento del riesgo de muerte del 37% (HR=1,37, IC 95%: 1,05-1,78) incluso después de ajustar por variables como la edad, sexo, comorbilidad y malnutrición. La segunda cohorte eran pacientes ingresados en instituciones geriátricas y los resultados obtenidos fueron muy similares a los de la primera cohorte de pacientes: la tasa de mortalidad fue mayor en los pacientes que estaban siendo tratados con IBP (36,6% vs. 21,9%; $p=0,005$), que se asociaron con un incremento del 82% en la mortalidad (HR= 1,82, IC 95%: 1,20-2,78).

Se han descrito varios mecanismos que potencialmente pueden explicar la relación entre el tratamiento crónico con IBP y la mortalidad (369). En primer lugar, la supresión de la acidez gástrica junto con el cambio de la flora

intestinal bacteriana que supone un tratamiento con IBP a largo plazo, pueden favorecer una mayor prevalencia de infecciones por *Clostridium difficile* así como de neumonías adquiridas en la comunidad (342,370,371). En segundo lugar, el uso de IBP puede causar déficit de Vitamina B₁₂ ocasionando así cierto grado de desnutrición (372). De hecho, la propia inhibición de la secreción gástrica que producen estos fármacos interfiere también en la absorción de ciertos nutrientes, aumentando el riesgo de malnutrición (373). En tercer lugar, la FDA en el año 2011 emitió una alerta sobre el riesgo de hipomagnesemia grave en pacientes que recibían IBP de manera prolongada. El mecanismo por el que se produce este efecto adverso no se conoce de forma definitiva, aunque parece que puede estar implicado un defecto en la absorción. Por otro lado, el magnesio estimula tanto la síntesis como la respuesta tisular a la PTH, por lo que un déficit del mismo puede desencadenar un hipoparatiroidismo secundario y favorecer la hipocalcemia observada en estos sujetos. A su vez, la concentración intracelular de magnesio participa en la regulación de los canales de potasio, de tal modo que un descenso marcado de dicho ión en la nefrona provoca un aumento en la excreción urinaria de potasio favoreciendo así la hipopotasemia que presentaban también algunos de los pacientes (374,375). Así, se sabe que todas estas alteraciones electrolíticas (hipomagnesemia, hipocalcemia e hipopotasemia) pueden ser causa de arritmias supraventriculares y ventriculares que pueden desencadenar una parada cardiorrespiratoria y la muerte del paciente (376,377). En cuarto lugar, se ha descrito un aumento del riesgo de fracturas óseas en pacientes ancianos que estaban siendo tratados a largo plazo con IBP (378). Finalmente, aunque ya en trabajos clásicos se ha demostrado la asociación entre el uso de IBP y el desarrollo de nefropatía aguda, sobre todo de nefritis intersticial aguda (379–382), es en un trabajo más reciente donde se relaciona el uso de estos fármacos con la enfermedad renal crónica (383). En dicho trabajo se comparan dos grupos de pacientes: los tratados con IBP y con ARH₂. El grupo de pacientes tratados más de 30 días con IBP tiene más riesgo de desarrollar tanto insuficiencia renal crónica (HR=1,22, IC 95%: 1,18-1,26), como de que dicha patología evolucione a una nefropatía en estadio terminal (HR=1,96, IC 95%: 1,21-3,18) (383).

Aunque en nuestro trabajo hemos recogido cada una de las causas de muerte de los pacientes, el número de eventos para cada una es demasiado pequeño y no permite encontrar una asociación entre el uso de IBP y cada causa específica de muerte.

En contraste con nuestros datos, *Oudit et al* encontraron que el uso de IBP no se asociaba con la mortalidad por cualquier causa al año tras analizar una cohorte de 22.107 pacientes mayores de 65 años con insuficiencia cardiaca (346). Sin embargo, el perfil de la población a estudio en ese trabajo era diferente al de nuestros pacientes, por la edad más avanzada y más comorbilidades. Además, las cifras de mortalidad recogidas fueron mayores que en nuestro trabajo (32% en el grupo que no tomaba IBP y 26% en el que sí los tomaba).

Debemos comentar que en nuestro trabajo el uso de IBP no fue un predictor independiente de eventos isquémicos agudos. Como ya se ha comentado previamente, hay numerosos estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos en la literatura que sugieren que el tratamiento crónico con IBP puede reducir los efectos antiplaquetarios del clopidogrel. La evidencia más fuerte de esta interacción se ha encontrado entre omeprazol y clopidogrel (384,385). Hay algunos trabajos que trasladan esta evidencia a resultados clínicos. *Ho et al* publicaron un estudio (365) de cohortes retrospectivo realizado con 8.205 pacientes que estaban siendo tratados con clopidogrel por un SCA. De ellos, aproximadamente dos tercios (63,9%) tomaban también un IBP y encontraron un aumento de la incidencia de hospitalización por SCA o muerte en el grupo de pacientes que tomaban de manera concomitante ambos fármacos (OR= 1,25, IC 95% 1,11-1,41). En la misma dirección están los hallazgos de un estudio publicado recientemente donde el uso de IBP en pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico se asoció a un aumento significativo de IAM (HR=1,16, IC 95%: 1,09-1,24), aunque en esta ocasión este hallazgo fue independiente del tratamiento concomitante con clopidogrel (386). Hay que destacar que la población analizada en este trabajo no tenía historia previa de enfermedad cardiovascular.

Sin embargo, otros estudios retrospectivos, incluyendo un análisis con propensity score, no han confirmado estos datos (362). Así, en el único

ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, que comparaba omeprazol y placebo en 3.761 pacientes con indicación de tratamiento con doble antiagregación, no se encontraron más eventos cardiovasculares adversos en el grupo tratado con IBP (320). Ante estos datos, hay que señalar que este ensayo se terminó antes de lo previsto (por pérdida de la financiación de manera repentina e inesperada por parte del patrocinador) y que el número de eventos finales fue menor de lo esperado (109 pacientes tuvieron eventos cardiovasculares, 4,9% en el grupo de omeprazol y 5,7% en el grupo placebo).

En nuestro estudio no solamente el porcentaje de pacientes que tomaban AAS y clopidogrel fue muy similar en ambos grupos (tratados y no tratados con IBP), sino que el tratamiento con clopidogrel no afectó a la asociación que hemos encontrado entre el uso de IBP y la incidencia del objetivo primario. Por lo tanto, parece razonable concluir que el tratamiento con IBP no influyó en el desarrollo de eventos isquémicos agudos y que el uso de clopidogrel no afectó a la asociación que hemos encontrado entre la utilización de IBP y el desarrollo del objetivo principal de nuestro estudio: aparición de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardiaca o muerte.

2.1. Limitaciones

En este segundo subestudio hemos de reconocer las siguientes limitaciones:

- En primer lugar, una vez más, la exclusión de pacientes con cierta inestabilidad clínica durante los primeros días tras el evento coronario agudo, podría suponer un cierto sesgo de selección dado que muy probablemente dichos pacientes tuviesen un pronóstico peor. Insistimos sin embargo, en que sólo el 9,1% de los casos se excluyeron por este motivo.
- En segundo lugar, al tratarse de un estudio observacional, no aleatorizado, es posible que puedan existir sesgos no identificados que pudieran condicionar los resultados obtenidos. Aunque hemos tenido en cuenta esas posibles diferencias y hemos realizado un análisis

multivariado y con propensity score para minimizarlas, la potencia estadística de nuestro trabajo es limitada ya que el tamaño muestral es pequeño.

- En tercer lugar, el escaso número de muertes ocurridas entre nuestros pacientes hace imposible encontrar una relación entre el uso de IBP y cada causa específica de mortalidad.

Conclusiones

Las conclusiones que se pueden obtener después de la lectura de esta Tesis son las siguientes:

1. Sólo un pequeño porcentaje de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica no tiene ninguno de los factores de riesgo cardiovascular clásicos.
2. Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular clásicos tienen un perfil de biomarcadores de inflamación más favorable, con niveles más bajos de hs-PCR y MCP-1.
3. Los pacientes con cardiopatía isquémica crónica que no presentan factores de riesgo cardiovascular clásicos tienen un perfil de biomarcadores del metabolismo mineral más favorable, con niveles más bajos de FGF23 y más altos de vitamina D.
4. Nuestro estudio no ha podido demostrar que los factores de riesgo cardiovascular sean predictores independientes de eventos cardiovasculares adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
5. Los niveles plasmáticos elevados de MCP-1 y FGF23 y disminuidos de Vitamina D son predictores independientes de eventos cardiovasculares adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
6. A pesar de que los pacientes con cardiopatía isquémica crónica y sin factores de riesgo cardiovascular tienen tendencia a tener menos eventos adversos (eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte) que los que sí los presentaban, en nuestro trabajo no hay diferencias significativas en las curvas de supervivencia libre de eventos entre ambos grupos.
7. En pacientes con cardiopatía isquémica crónica, el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones, es un predictor independiente del objetivo principal compuesto por eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte a expensas fundamentalmente del desarrollo de insuficiencia cardíaca o muerte.

Hay que tener en cuenta que son conclusiones extraídas de un estudio observacional con las limitaciones que ello conlleva. Se necesitan posteriores estudios con diseño de ensayo clínico donde se demuestren estos hallazgos.

Bibliografía

1. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009 Jan 27;119(3):e21-181.
2. Townsend N, Nichols M, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe — epidemiological update 2015. *Eur Heart J*. 2015 Aug 25;36(40):ehv428.
3. Deedwania PC, Carbajal E V. Silent myocardial ischemia. A clinical perspective. *Arch Intern Med*. 1991 Dec;151(12):2373–82.
4. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2013 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2013 Jan 2;127(1):143–52.
5. López-Bescós L, Cosín J, Elosua R, Cabadés A, de los Reyes M, Arós F, et al. [The prevalence of angina and cardiovascular risk factors in the different autonomous communities of Spain: the PANES Study. Prevalencia de Angina en España]. *Rev española Cardiol*. 1999 Dec;52(12):1045–56.
6. Instituto Nacional de Estadística. (National Statistics Institute) [Internet]. [cited 2016 Feb 4]. Available from: <http://www.ine.es/jaxi/tabla.do?path=/t15/p419/a2011/p04/10/&file=04008.px&type=pcaxis&L=0>
7. Ferreira-González I. The epidemiology of coronary heart disease. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014 Mar;67(2):139–44.
8. Towfighi A, Zheng L, Ovbiagele B. Sex-specific trends in midlife coronary heart disease risk and prevalence. *Arch Intern Med*. 2009 Oct 26;169(19):1762–6.
9. Lerner DJ, Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J*. 1986 Feb;111(2):383–90.
10. Ergin A, Muntner P, Sherwin R, He J. Secular trends in cardiovascular disease mortality, incidence, and case fatality rates in adults in the United

- States. *Am J Med*. 2004 Aug 15;117(4):219–27.
11. Dégano IR, Elosua R, Marrugat J. Epidemiology of acute coronary syndromes in Spain: estimation of the number of cases and trends from 2005 to 2049. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2013 Jun;66(6):472–81.
 12. Orozco-Beltran D, Cooper RS, Gil-Guillen V, Bertomeu-Martinez V, Pita-Fernandez S, Durazo-Arvizu R, et al. Trends in mortality from myocardial infarction. A comparative study between Spain and the United States: 1990-2006. *Rev española Cardiol (English ed)*. 2012 Dec;65(12):1079–85.
 13. Flores-Mateo G, Grau M, O’Flaherty M, Ramos R, Elosua R, Violan-Fors C, et al. [Analyzing the coronary heart disease mortality decline in a Mediterranean population: Spain 1988-2005]. *Rev española Cardiol*. 2011 Nov;64(11):988–96.
 14. Puymirat E, Simon T, Steg PG, Schiele F, Guéret P, Blanchard D, et al. Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA*. 2012 Sep 12;308(10):998–1006.
 15. Capewell S, Morrison CE, McMurray JJ. Contribution of modern cardiovascular treatment and risk factor changes to the decline in coronary heart disease mortality in Scotland between 1975 and 1994. *Heart*. 1999 Apr;81(4):380–6.
 16. McGovern PG, Pankow JS, Shahar E, Doliszny KM, Folsom AR, Blackburn H, et al. Recent trends in acute coronary heart disease--mortality, morbidity, medical care, and risk factors. The Minnesota Heart Survey Investigators. *N Engl J Med*. 1996 Apr 4;334(14):884–90.
 17. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, et al. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med*. 2007 Jun 7;356(23):2388–98.
 18. Reddy KS. Cardiovascular disease in non-Western countries. *N Engl J Med*. 2004 Jun 10;350(24):2438–40.
 19. Critchley J, Liu J, Zhao D, Wei W, Capewell S. Explaining the increase in coronary heart disease mortality in Beijing between 1984 and 1999. *Circulation*. 2004 Sep 7;110(10):1236–44.
 20. Invasive compared with non-invasive treatment in unstable coronary-artery

- disease: FRISC II prospective randomised multicentre study. FRagmin and Fast Revascularisation during InStability in Coronary artery disease Investigators. *Lancet* (London, England). 1999 Aug 28;354(9180):708–15.
21. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. The GUSTO investigators. *N Engl J Med*. 1993 Sep 2;329(10):673–82.
 22. Stone GW, Grines CL, Cox DA, Garcia E, Tcheng JE, Griffin JJ, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2002 Mar 28;346(13):957–66.
 23. Cannon CP, Gibson CM, Lambrew CT, Shoultz DA, Levy D, French WJ, et al. Relationship of symptom-onset-to-balloon time and door-to-balloon time with mortality in patients undergoing angioplasty for acute myocardial infarction. *JAMA*. 2000 Jun 14;283(22):2941–7.
 24. Steg PG, Goldberg RJ, Gore JM, Fox KAA, Eagle KA, Flather MD, et al. Baseline characteristics, management practices, and in-hospital outcomes of patients hospitalized with acute coronary syndromes in the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am J Cardiol*. 2002 Aug 15;90(4):358–63.
 25. Hasdai D, Behar S, Wallentin L, Danchin N, Gitt AK, Boersma E, et al. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J*. 2002 Aug;23(15):1190–201.
 26. Gil M, Martí H, Elosúa R, Grau M, Sala J, Masiá R, et al. [Analysis of trends in myocardial infarction case-fatality, incidence and mortality rates in Girona, Spain, 1990-1999]. *Rev española Cardiol*. 2007 Apr;60(4):349–56.
 27. Cabadés O'Callaghan A. [The REGICOR registry and the epidemiology of myocardial infarction in Spain: forging a path]. *Rev española Cardiol*. 2007 Apr;60(4):342–5.
 28. Sicras-Mainar A, Fernández de Bobadilla J, Navarro-Artieda R, Martín I, Varela-Moreno C. [Morbi-mortality and use of recourses after acute coronary syndrome in a Spanish population]. *Rev clínica española*. 2011

- Dec;211(11):560–71.
29. Lang K, Korn JR, Simko RJ, Zachry WM, Patel N V, Nair R, et al. Development of an interactive model of the burden of future coronary heart disease from an employer perspective. *J Occup Environ Med*. 2010 Sep;52(9):851–7.
 30. Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res*. 1977 Dec;41(6):735–43.
 31. Stein Y, Stein O. Interactions of serum lipoproteins with human endothelial cells in culture. *Expo Annu Biochim médicale*. 1977 Jan;33:131–5.
 32. Vanhoutte PM. The endothelium--modulator of vascular smooth-muscle tone. *N Engl J Med*. 1988 Aug 25;319(8):512–3.
 33. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991 Jun;43(2):109–42.
 34. Draijer R, Atsma DE, van der Laarse A, van Hinsbergh VW. cGMP and nitric oxide modulate thrombin-induced endothelial permeability. Regulation via different pathways in human aortic and umbilical vein endothelial cells. *Circ Res*. 1995 Feb;76(2):199–208.
 35. Cardona-Sanclemente LE, Born G V. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on the uptake of LDL and fibrinogen by arterial walls and other organs of the rat. *Br J Pharmacol*. 1995 Apr;114(7):1490–4.
 36. Skilton MR, Sullivan TR, Ayer JG, Harmer JA, Toelle BG, Webb K, et al. Carotid extra-medial thickness in childhood: early life effects on the arterial adventitia. *Atherosclerosis*. 2012 Jun;222(2):478–82.
 37. Campbell KA, Lipinski MJ, Doran AC, Skaflen MD, Fuster V, McNamara CA. Lymphocytes and the adventitial immune response in atherosclerosis. *Circ Res*. 2012 Mar 16;110(6):889–900.
 38. Henry PD, Chen CH. Inflammatory mechanisms of atheroma formation. Influence of fluid mechanics and lipid-derived inflammatory mediators. *Am J Hypertens*. 1993 Nov;6(11 Pt 2):328S–334S.
 39. Nollert MU, Diamond SL, McIntire L V. Hydrodynamic shear stress and mass transport modulation of endothelial cell metabolism. *Biotechnol Bioeng*. 1991 Sep;38(6):588–602.

40. Carosi JA, Eskin SG, McIntire L V. Cyclical strain effects on production of vasoactive materials in cultured endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1992 Apr;151(1):29–36.
41. Lin SJ, Jan KM, Weinbaum S, Chien S. Transendothelial transport of low density lipoprotein in association with cell mitosis in rat aorta. *Arteriosclerosis.* Jan;9(2):230–6.
42. Nielsen LB, Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb.* 1992 Dec;12(12):1402–9.
43. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115–26.
44. Flavahan NA, Vanhoutte PM. G-proteins and endothelial responses. *Blood Vessels.* 1990 Jan;27(2–5):218–29.
45. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens.* 1995 May;8(5 Pt 2):28S–41S.
46. Cox DA, Cohen ML. Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev.* 1996 Mar;48(1):3–19.
47. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998 Mar 31;97(12):1129–35.
48. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation.* 1999 Jun 22;99(24):3092–5.
49. Bode-Böger SM, Böger RH, Kienke S, Junker W, Frölich JC. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 Feb 15;219(2):598–603.
50. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996 Nov;271(5 Pt 1):C1424–37.
51. Dzau VJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1998 Sep;19 Suppl J:J2–6.

52. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation*. 1996 Jul 1;94(1):19–25.
53. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest*. 1993 Jun;91(6):2546–51.
54. Liu S, Beckman JS, Ku DD. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994 Mar;268(3):1114–21.
55. Moro MA, Darley-Usmar VM, Goodwin DA, Read NG, Zamora-Pino R, Feelisch M, et al. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Jul 5;91(14):6702–6.
56. Moro MA, Darley-Usmar VM, Lizasoain I, Su Y, Knowles RG, Radomski MW, et al. The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. *Br J Pharmacol*. 1995 Oct;116(3):1999–2004.
57. Lefer DJ, Scalia R, Campbell B, Nossuli T, Hayward R, Salamon M, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest*. 1997 Feb 15;99(4):684–91.
58. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Feb;87(4):1620–4.
59. Ischiropoulos H, al-Mehdi AB. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett*. 1995 May 15;364(3):279–82.
60. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol*. 1995 May;268(5 Pt 1):L699-722.
61. Bittery LD, Springall DR, Chester AH, Evans TJ, Standfield EN, Parums D V, et al. Inducible nitric oxide synthase is present within human atherosclerotic lesions and promotes the formation and activity of peroxynitrite. *Lab Invest*. 1996 Jul;75(1):77–85.
62. Rajagopalan S, Harrison DG. Reversing endothelial dysfunction with ACE

- inhibitors. A new trend. *Circulation*. 1996 Aug 1;94(3):240–3.
63. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1994 Jun;74(6):1141–8.
 64. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest*. 1996 Apr 15;97(8):1916–23.
 65. Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. *Circulation*. 1996 Aug 1;94(3):258–65.
 66. Diet F, Pratt RE, Berry GJ, Momose N, Gibbons GH, Dzau VJ. Increased accumulation of tissue ACE in human atherosclerotic coronary artery disease. *Circulation*. 1996 Dec 1;94(11):2756–67.
 67. Tuñón JM-VJG-HA. No Title. In: Egido J; TJL-BL, editor. *Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. Editorial Línea de Comunicación; 2004. p. 19–37.
 68. Goldschmid MG, Barrett-Connor E, Edelstein SL, Wingard DL, Cohn BA, Herman WH. Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. *Circulation*. 1994 Mar;89(3):991–7.
 69. Sigurdsson G, Gudnason V, Humphries SE. Interaction between a polymorphism of the apo A-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I. *Arterioscler Thromb*. 1992 Sep;12(9):1017–22.
 70. McCall MR, van den Berg JJ, Kuypers FA, Tribble DL, Krauss RM, Knoff LJ, et al. Modification of LCAT activity and HDL structure. New links between cigarette smoke and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb*. 1994 Feb;14(2):248–53.
 71. Bucala R, Makita Z, Vega G, Grundy S, Koschinsky T, Cerami A, et al. Modification of low density lipoprotein by advanced glycation end

- products contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Sep 27;91(20):9441–5.
72. Steinbrecher UP, Witztum JL. Glucosylation of low-density lipoproteins to an extent comparable to that seen in diabetes slows their catabolism. *Diabetes*. 1984 Feb;33(2):130–4.
 73. Fuster V. No Title. In: Fuster V, editor. *Coronary artery disease: a clinical-pathological correlation*. New York: Futura Publishing; 1996.
 74. Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Bondjers G. Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis*. 1998 Aug;139(2):205–22.
 75. Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S, Chien S. Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemotactic protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 May 24;91(11):4678–82.
 76. Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Pérez F, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Dec;32(7):2057–64.
 77. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*. 1997 Apr 10;336(15):1066–71.
 78. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*. 1999 Mar 2;99(8):993–8.
 79. Robbesyn F, Garcia V, Auge N, Vieira O, Frisach M-F, Salvayre R, et al. HDL counterbalance the proinflammatory effect of oxidized LDL by inhibiting intracellular reactive oxygen species rise, proteasome activation, and subsequent NF-kappaB activation in smooth muscle cells. *FASEB J*. 2003 Apr;17(6):743–5.
 80. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*. 1997 Aug 5;96(3):934–40.
 81. Collins T. Endothelial nuclear factor-kappa B and the initiation of the

- atherosclerotic lesion. *Lab Invest.* 1993 May;68(5):499–508.
82. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb.* 1993 Feb;13(2):197–204.
 83. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, Gall NP, Johnson-Tidey RR. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 1992 Mar;140(3):665–73.
 84. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol.* 1993 Nov;171(3):223–9.
 85. Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation.* 2002 Nov 19;106(21):2700–6.
 86. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest.* 1991 Oct;88(4):1121–7.
 87. Hernández-Presa M, Bustos C, Ortego M, Tuñón J, Renedo G, Ruiz-Ortega M, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation.* 1997 Mar 18;95(6):1532–41.
 88. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P, et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest.* 1999 Oct;104(8):1041–50.
 89. Burleigh ME, Babaev VR, Oates JA, Harris RC, Gautam S, Riendeau D, et al. Cyclooxygenase-2 promotes early atherosclerotic lesion formation in LDL receptor-deficient mice. *Circulation.* 2002 Apr 16;105(15):1816–23.
 90. De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis--5-lipoxygenase, leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med.* 2004 Jan 1;350(1):4–7.

91. Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, Tangirala R, Fazio S, Linton MF, et al. Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apo E-deficient mice. *J Clin Invest*. 1999 Jun;103(11):1597–604.
92. Keidar S, Kaplan M, Shapira C, Brook JG, Aviram M. Low density lipoprotein isolated from patients with essential hypertension exhibits increased propensity for oxidation and enhanced uptake by macrophages: a possible role for angiotensin II. *Atherosclerosis*. 1994 May;107(1):71–84.
93. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Jul 15;90(14):6434–8.
94. Schwartz CJ; Chandler AB; No Title. In: Fuster V, editor. *Syndromes of Atherosclerosis*. New York; 1996. p. 17–32.
95. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation*. 1998 Sep 22;98(12):1164–71.
96. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res*. 1995 Sep;77(3):445–65.
97. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995 Sep 1;92(5):1355–74.
98. Jawien A, Bowen-Pope DF, Lindner V, Schwartz SM, Clowes AW. Platelet-derived growth factor promotes smooth muscle migration and intimal thickening in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest*. 1992 Feb;89(2):507–11.
99. Hu Y, Zhang Z, Torsney E, Afzal AR, Davison F, Metzler B, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest*. 2004 May;113(9):1258–65.
100. Shibutani T, Kanda A, Ishigai Y, Mori T, Chiba K, Tanaka M, et al. Inhibitory effect of perindopril, a novel angiotensin-converting enzyme

- inhibitor, on neointima formation after balloon injury in rats and cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994 Sep;24(3):509–16.
101. Rakugi H, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Potential importance of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition in preventing neointima formation. *Circulation*. 1994 Jul;90(1):449–55.
 102. Powell JS, Clozel JP, Müller RK, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, et al. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science*. 1989 Jul 14;245(4914):186–8.
 103. Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ. Induction of platelet-derived growth factor A-chain and c-myc gene expressions by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1989 Apr;83(4):1419–24.
 104. Aikawa M, Kim HS, Kuro-o M, Manabe I, Watanabe M, Yamaguchi H, et al. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during progression of human atherosclerosis as determined by altered expression of myosin heavy chain isoforms. *Ann N Y Acad Sci*. 1995 Jan 17;748:578–85.
 105. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb*. Jan;11(5):1223–30.
 106. Oemar BS, Werner A, Garnier JM, Do DD, Godoy N, Nauck M, et al. Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions. *Circulation*. 1997 Feb 18;95(4):831–9.
 107. Tuñón J, Ruiz-Ortega M, Egido J. Regulation of matrix proteins and impact on vascular structure. *Curr Hypertens Rep*. 2000 Feb;2(1):106–13.
 108. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*. 1995 Nov;77(5):863–8.
 109. Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA. Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. *Circ Res*. 1996 Jan;78(1):38–43.
 110. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987 May 28;316(22):1371–5.
 111. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, et

- al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 1994 Oct;145(4):883–94.
112. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med*. 2003 Dec 11;349(24):2316–25.
 113. Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA*. 2003 Nov 5;290(17):2277–83.
 114. Jang IK, Lassila R, Fuster V. Atherogenesis and inflammation. *Eur Heart J*. 1993 Dec;14 Suppl K:2–6.
 115. McNamara CA, Sarembock IJ, Gimple LW, Fenton JW, Coughlin SR, Owens GK. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated receptor. *J Clin Invest*. 1993 Jan;91(1):94–8.
 116. Webber BJ, Seguin PG, Burnett DG, Clark LL, Otto JL. Prevalence of and risk factors for autopsy-determined atherosclerosis among US service members, 2001-2011. *JAMA*. 2012 Dec 26;308(24):2577–83.
 117. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1988 Jul;12(1):56–62.
 118. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, Kutcher MA, Burrows MT, Kahl FR, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation*. 1988 Nov;78(5 Pt 1):1157–66.
 119. Mann JM, Davies MJ. Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation*. 1996 Sep 1;94(5):928–31.
 120. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation*. 1996 Oct 15;94(8):2013–20.
 121. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, Tuzcu

- EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes : an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2000 Feb 15;101(6):598–603.
122. Falk E; Shah PK;Fuster V; No Title. In: Fuster V; Ross R; Topol EJ;, editor. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia:Lippincott-Raven; 1996. p. 491–507.
 123. Rekhter MD, Zhang K, Narayanan AS, Phan S, Schork MA, Gordon D. Type I collagen gene expression in human atherosclerosis. Localization to specific plaque regions. *Am J Pathol*. 1993 Dec;143(6):1634–48.
 124. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, Lee RT. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res*. 1992 Oct;71(4):850–8.
 125. Burleigh MC, Briggs AD, Lendon CL, Davies MJ, Born G V, Richardson PD. Collagen types I and III, collagen content, GAGs and mechanical strength of human atherosclerotic plaque caps: span-wise variations. *Atherosclerosis*. 1992 Sep;96(1):71–81.
 126. Stein PD, Hamid MS, Shivkumar K, Davis TP, Khaja F, Henry JW. Effects of cyclic flexion of coronary arteries on progression of atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1994 Mar 1;73(7):431–7.
 127. Cheng GC, Loree HM, Kamm RD, Fishbein MC, Lee RT. Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions. A structural analysis with histopathological correlation. *Circulation*. 1993 Apr;87(4):1179–87.
 128. van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation*. 1994 Jan;89(1):36–44.
 129. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation*. 1994 Aug;90(2):775–8.
 130. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Stratos C, Vavuranakis M, Kallikazaros I, et al. Increased local temperature in human coronary atherosclerotic plaques: an independent predictor of clinical outcome in

- patients undergoing a percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Apr;37(5):1277–83.
131. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*. 1995 Aug 1;92(3):657–71.
 132. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *Bioessays*. 1992 Jul;14(7):455–63.
 133. Fitzsimmons C, Proudfoot D, Bowyer DE. Monocyte prostaglandins inhibit procollagen secretion by human vascular smooth muscle cells: implications for plaque stability. *Atherosclerosis*. 1999 Feb;142(2):287–93.
 134. Leskinen MJ, Kovanen PT, Lindstedt KA. Regulation of smooth muscle cell growth, function and death in vitro by activated mast cells--a potential mechanism for the weakening and rupture of atherosclerotic plaques. *Biochem Pharmacol*. 2003 Oct 15;66(8):1493–8.
 135. Ihara M, Urata H, Kinoshita A, Suzumiya J, Sasaguri M, Kikuchi M, et al. Increased chymase-dependent angiotensin II formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension*. 1999 Jun;33(6):1399–405.
 136. Laine P, Kaartinen M, Penttilä A, Panula P, Paavonen T, Kovanen PT. Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. *Circulation*. 1999 Jan 26;99(3):361–9.
 137. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch KT, Becker AE, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Sep;32(3):606–12.
 138. Casale PN, Jones JL, Wolf FE, Pei Y, Eby LM. Patients treated by cardiologists have a lower in-hospital mortality for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Oct;32(4):885–9.
 139. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, Gómez-Hernández A, Arribas A, Ortega L, et al. NF-kappaB activation and Fas ligand overexpression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potential implication in plaque instability. *Stroke*. 2004 Feb;35(2):458–63.
 140. Wilson SH, Best PJM, Edwards WD, Holmes DR, Carlson PJ, Celermajer

- DS, et al. Nuclear factor-kappaB immunoreactivity is present in human coronary plaque and enhanced in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*. 2002 Jan;160(1):147–53.
141. Schönbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res*. 2001 Dec 7;89(12):1092–103.
142. Bavendiek U, Libby P, Kilbride M, Reynolds R, Mackman N, Schönbeck U. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr-1. *J Biol Chem*. 2002 Jul 12;277(28):25032–9.
143. Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, Koteliensky VE, Burkly LC, Daemen MJ. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Jun 20;97(13):7464–9.
144. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Aug;32(2):368–72.
145. Ritchie ME. Nuclear factor-kappaB is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation*. 1998 Oct 27;98(17):1707–13.
146. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moye LA, Goldman S, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*. 1998 Sep 1;98(9):839–44.
147. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet (London, England)*. 1998 Jan 10;351(9096):88–92.
148. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997 Apr 3;336(14):973–9.
149. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E,

- Zeihner AM, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2003 Mar 20;348(12):1104–11.
150. Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Egido J. ACE inhibitor quinapril reduces the arterial expression of NF-kappaB-dependent proinflammatory factors but not of collagen I in a rabbit model of atherosclerosis. *Am J Pathol*. 1998 Dec;153(6):1825–37.
151. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Gómez-Hernández A, Muñoz-García B, Vega M, Serrano J, et al. Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke*. 2005 Aug;36(8):1796–800.
152. Ortego M, Bustos C, Hernández-Presa MA, Tuñón J, Díaz C, Hernández G, et al. Atorvastatin reduces NF-kappaB activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis*. 1999 Dec;147(2):253–61.
153. Blanco-Colio LM, Valderrama M, Alvarez-Sala LA, Bustos C, Ortego M, Hernández-Presa MA, et al. Red wine intake prevents nuclear factor-kappaB activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation*. 2000 Aug 29;102(9):1020–6.
154. André P, Prasad KSS, Denis C V, He M, Papalia JM, Hynes RO, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med*. 2002 Mar;8(3):247–52.
155. Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation*. 1995 Jun 1;91(11):2703–11.
156. Hetts SW. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA*. 1998 Jan 28;279(4):300–7.
157. Hutter R, Valdiviezo C, Sauter B V, Savontaus M, Chereshev I, Carrick FE, et al. Caspase-3 and tissue factor expression in lipid-rich plaque macrophages: evidence for apoptosis as link between inflammation and atherothrombosis. *Circulation*. 2004 Apr 27;109(16):2001–8.
158. Mallat Z, Hugel B, Ohan J, Lesèche G, Freyssinet JM, Tedgui A. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity.

- Circulation. 1999 Jan 26;99(3):348–53.
159. Bauriedel G, Hutter R, Welsch U, Bach R, Sievert H, Lüderitz B. Role of smooth muscle cell death in advanced coronary primary lesions: implications for plaque instability. *Cardiovasc Res*. 1999 Feb;41(2):480–8.
 160. Weitkamp B, Cullen P, Plenz G, Robenek H, Rauterberg J. Human macrophages synthesize type VIII collagen in vitro and in the atherosclerotic plaque. *FASEB J*. 1999 Aug;13(11):1445–57.
 161. Hishikawa K, Oemar BS, Tanner FC, Nakaki T, Fujii T, Lüscher TF. Overexpression of connective tissue growth factor gene induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Circulation*. 1999 Nov 16;100(20):2108–12.
 162. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation*. 1997 Dec 2;96(11):4095–103.
 163. Dechend R, Maass M, Gieffers J, Dietz R, Scheidereit C, Leutz A, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. *Circulation*. 1999 Sep 28;100(13):1369–73.
 164. Bachmaier K, Neu N, de la Maza LM, Pal S, Hessel A, Penninger JM. *Chlamydia* infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science*. 1999 Feb 26;283(5406):1335–9.
 165. Weis M, Kledal TN, Lin KY, Panchal SN, Gao SZ, Valantine HA, et al. Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation*. 2004 Feb 3;109(4):500–5.
 166. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation*. Jan;98(25):2796–9.
 167. Ridker PM, Kundsinn RB, Stampfer MJ, Poulin S, Hennekens CH. Prospective study of *Chlamydia pneumoniae* IgG seropositivity and risks of future myocardial infarction. *Circulation*. 1999 Mar 9;99(9):1161–4.
 168. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, Mendall MA, Kaski JC, Camm AJ.

- Elevated Chlamydia pneumoniae antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation*. 1997 Jul 15;96(2):404–7.
169. Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist J, Allen A, Trehan S, Nielson C, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for Chlamydia pneumoniae infection: The Azithromycin in Coronary Artery Disease: Elimination of Myocardial Infection with Chlamydia (AC. *Circulation*. 1999 Mar 30;99(12):1540–7.
170. Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF, Salunkhe K, Horne BD, Pearson RR, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease: primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation*. 2000 Oct 10;102(15):1755–60.
171. O'Connor CM, Dunne MW, Pfeffer MA, Muhlestein JB, Yao L, Gupta S, et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD study: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003 Sep 17;290(11):1459–66.
172. Zahn R, Schneider S, Frilling B, Seidl K, Tebbe U, Weber M, et al. Antibiotic therapy after acute myocardial infarction: a prospective randomized study. *Circulation*. 2003 Mar 11;107(9):1253–9.
173. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J*. 1988 Dec;60(6):459–64.
174. Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang TY, Mannan P, Smialek J, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation*. 1996 Apr 1;93(7):1354–63.
175. Berenson GS, Radhakrishnamurthy B, Srinivasan SR, Vijayagopal P, Dalferes ER. Arterial wall injury and proteoglycan changes in atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 Oct;112(10):1002–10.
176. Rauch U, Bonderman D, Bohrmann B, Badimon JJ, Hember J, Riederer MA, et al. Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood*. 2000 Jul 1;96(1):170–5.

177. Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, Silva FG, Esmon CT. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol.* 2001 Sep;159(3):797–802.
178. Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. Primary prevention of coronary heart disease: guidance from Framingham: a statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on Risk Reduction. American Heart Association. *Circulation.* 1998 May 12;97(18):1876–87.
179. KINCH SH, DOYLE JT, HILLEBOE HE. Risk factors in ischemic heart disease. *Am J Public Health Nations Health.* 1963 Mar;53:438–42.
180. Steiner, A; Domanski B. Dietary hypercholesterolemia. *Am J Med Sci.* 1941;201:820–4.
181. Master, AM; Dack, S; Jaffe H. Age, ex and hypertension in myocardial infarction due to coronary occlusion. *Arch Intern Med.* 1939;64:767–86.
182. Gertler M, Garn S, Lerman J. The interrelationships of serum cholesterol, cholesterol esters and phospholipids in health and in coronary artery disease. *Circulation.* 1950 Aug;2(2):205–14.
183. Dawber T. The Framingham Study. The epidemiology of atherosclerotic disease. Cambridge, MA; 1980.
184. DAWBER TR, MOORE FE, MANN G V. Coronary heart disease in the Framingham study. *Am J Public Health Nations Health.* 1957 Apr;47(4 Pt 2):4–24.
185. DAWBER TR, KANNEL WB, REVOTSKIE N, STOKES J, KAGAN A, GORDON T. Some factors associated with the development of coronary heart disease: six years' follow-up experience in the Framingham study. *Am J Public Health Nations Health.* 1959 Oct;49:1349–56.
186. EPSTEIN FH, OSTRANDER LD, JOHNSON BC, PAYNE MW, HAYNER NS, KELLER JB, et al. EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CARDIOVASCULAR DISEASE IN A TOTAL COMMUNITY--TECUMSEH, MICHIGAN. *Ann Intern Med.* 1965 Jun;62:1170–87.
187. HILLEBOE HE, JAMES G, DOYLE JT. Cardiovascular Health Center. I. Project design for public health research. *Am J Public Health Nations*

- Health. 1954 Jul;44(7):851–63.
188. Rosenman RH, Brand RJ, Jenkins D, Friedman M, Straus R, Wurm M. Coronary heart disease in Western Collaborative Group Study. Final follow-up experience of 8 1/2 years. JAMA. 1975 Aug 25;233(8):872–7.
 189. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. The pooling project research group. J Chronic Dis. 1978 Apr;31(4):201–306.
 190. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, Neaton JD, Dyer AR, Garside DB, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. JAMA. 2003 Aug 20;290(7):891–7.
 191. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet. Jan;364(9438):937–52.
 192. Yusuf S, Rangarajan S, Teo K, Islam S, Li W, Liu L, et al. Cardiovascular risk and events in 17 low-, middle-, and high-income countries. N Engl J Med. 2014 Aug 28;371(9):818–27.
 193. LINDGREN FT, ELLIOTT HA, GOFMAN JW. The ultracentrifugal characterization and isolation of human blood lipids and lipoproteins, with applications to the study of atherosclerosis. J Phys Colloid Chem. 1951 Jan;55(1):80–93.
 194. LEES RS, HATCH FT. Sharper separation of lipoprotein species by paper electrophoresis in albumin-containing buffer. J Lab Clin Med. 1963 Mar;61:518–28.
 195. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis. Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. Arch Pathol Lab Med. 1989 Oct;113(10):1101–10.
 196. EVALUATION of serum lipoprotein and cholesterol measurements as predictors of clinical complications of atherosclerosis; report of a cooperative study of lipoproteins and atherosclerosis. Circulation. 1956 Oct;14(4 Part 2):691–742.
 197. Cui Y, Blumenthal RS, Flaws JA, Whiteman MK, Langenberg P, Bachorik PS, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol level as a predictor of

- cardiovascular disease mortality. *Arch Intern Med.* 2001 Jun 11;161(11):1413–9.
198. Miller GJ, Miller NE. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* (London, England). 1975 Jan 4;1(7897):16–9.
 199. BERG K. A NEW SERUM TYPE SYSTEM IN MAN--THE LP SYSTEM. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1963 Jan;59:369–82.
 200. Dahlén G, Berg K, Frick MH. Lp(a) lipoprotein/pre-beta1-lipoprotein, serum lipids and atherosclerotic disease. *Clin Genet.* 1976 Jun;9(6):558–66.
 201. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, Eaton DL, Chen EY, Fless GM, et al. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature.* Jan;330(6144):132–7.
 202. Loscalzo J. Lipoprotein(a). A unique risk factor for atherothrombotic disease. *Arteriosclerosis.* Jan;10(5):672–9.
 203. Sönmez H, Süer S, Kökoğlu E, Dirican A, Ulutin T, Uçışık N, et al. The importance of Lp(a)-fibronectin interaction in atherogenesis. *Haematologia* (Budap). 1997 Jan;28(3):149–53.
 204. Howard GC, Pizzo S V. Lipoprotein(a) and its role in atherothrombotic disease. *Lab Invest.* 1993 Oct;69(4):373–86.
 205. ALBRINK MJ, MAN EB. Serum triglycerides in coronary artery disease. *AMA Arch Intern Med.* 1959 Jan;103(1):4–8.
 206. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk.* 1996 Apr;3(2):213–9.
 207. NIH Consensus conference. Triglyceride, high-density lipoprotein, and coronary heart disease. NIH Consensus Development Panel on Triglyceride, High-Density Lipoprotein, and Coronary Heart Disease. *JAMA.* 1993 Jan 27;269(4):505–10.
 208. MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* (London, England). 1990 Mar

- 31;335(8692):765–74.
209. Miura K, Daviglius ML, Dyer AR, Liu K, Garside DB, Stamler J, et al. Relationship of blood pressure to 25-year mortality due to coronary heart disease, cardiovascular diseases, and all causes in young adult men: the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Arch Intern Med*. 2001 Jun 25;161(12):1501–8.
 210. Lembo G, Morisco C, Lanni F, Barbato E, Vecchione C, Fratta L, et al. Systemic hypertension and coronary artery disease: the link. *Am J Cardiol*. 1998 Aug 6;82(3A):2H–7H.
 211. Unger T. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am J Cardiol*. 2002 Jan 24;89(2A):3A–9A; discussion 10A.
 212. Glasser SP. Hypertension, hypertrophy, hormones, and the heart. *Am Heart J*. 1998 Feb;135(2 Pt 2):S16-20.
 213. WELLMANN KF. [SMOKING AND HEALTH. ON THE REPORT OF THE ADVISORY COMMITTEE TO THE SURGEON GENERAL OF THE PUBLIC HEALTH SERVICE]. *Dtsch Med Wochenschr*. 1964 May 29;89:1085–6.
 214. Cigarette smoking among adults--United States, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2001 Oct 12;50(40):869–73.
 215. McGill, Henry C Jr; McMahan CA. No title. In: Fuster, Valentín; Topol, Eric J; Nabel EG, editor. *Atherothrombosis and Coronary Artery Disease*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 23–33.
 216. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med*. 1997 May 1;336(18):1276–82.
 217. McGill, HC Jr; Stern M. Sex and atherosclerosis. *Atheroscler Rev*. 1979;4:157–242.
 218. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979 May 11;241(19):2035–8.
 219. The Coronary Drug Project. Initial findings leading to modifications of its research protocol. *JAMA*. 1970 Nov 16;214(7):1303–13.

220. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA*. 2002 Jul 3;288(1):49–57.
221. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002 Jul 17;288(3):321–33.
222. Scheuner MT. Genetic predisposition to coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol*. 2001 Jul;16(4):251–60.
223. Muller C. Xanthomata, hypercholesterolemia, angina pectoris. *Acta Med Scand Suppl*. 1938;89:75–84.
224. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. A genetic regulatory defect in cholesterol metabolism. *Am J Med*. 1975 Feb;58(2):147–50.
225. Narayan KMV, Boyle JP, Thompson TJ, Sorensen SW, Williamson DF. Lifetime risk for diabetes mellitus in the United States. *JAMA*. 2003 Oct 8;290(14):1884–90.
226. Fujimoto WY. The importance of insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med*. 2000 Apr 17;108 Suppl:9S–14S.
227. Kris-Etherton PM. AHA Science Advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American Heart Association. Nutrition Committee. *Circulation*. 1999 Sep 14;100(11):1253–8.
228. Lowe LP, Liu K, Greenland P, Metzger BE, Dyer AR, Stamler J. Diabetes, asymptomatic hyperglycemia, and 22-year mortality in black and white men. The Chicago Heart Association Detection Project in Industry Study. *Diabetes Care*. 1997 Feb;20(2):163–9.
229. Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, Brown J, Zhao F, Hunt D, et al. Impact of diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. *Circulation*. 2000 Aug 29;102(9):1014–9.

230. Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK. Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA*. 1990 Jun 6;263(21):2893–8.
231. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*. 2002 May 15;287(19):2570–81.
232. Reaven GM. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev*. 1995 Jul;75(3):473–86.
233. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 1999 May 13;83(9B):25F–29F.
234. Pyörälä M, Miettinen H, Halonen P, Laakso M, Pyörälä K. Insulin resistance syndrome predicts the risk of coronary heart disease and stroke in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Feb;20(2):538–44.
235. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16;287(3):356–9.
236. Alexander JK. Obesity and coronary heart disease. *Am J Med Sci*. 2001 Apr;321(4):215–24.
237. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983 May;67(5):968–77.
238. Jousilahti P, Tuomilehto J, Vartiainen E, Pekkanen J, Puska P. Body weight, cardiovascular risk factors, and coronary mortality. 15-year follow-up of middle-aged men and women in eastern Finland. *Circulation*. 1996 Apr 1;93(7):1372–9.
239. Stern MP, Haffner SM. Body fat distribution and hyperinsulinemia as risk factors for diabetes and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis*. 1996 Jan;6(2):123–30.
240. Paffenbarger RS, Hale WE. Work activity and coronary heart mortality. *N Engl J Med*. 1975 Mar 13;292(11):545–50.

241. Berlin JA, Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol.* 1990 Oct;132(4):612–28.
242. Paffenbarger RS, Hyde RT, Wing AL, Lee IM, Jung DL, Kampert JB. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *N Engl J Med.* 1993 Feb 25;328(8):538–45.
243. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med.* 1997 Nov 6;337(19):1360–9.
244. Hennekens CH. Increasing burden of cardiovascular disease: current knowledge and future directions for research on risk factors. *Circulation.* 1998 Mar 24;97(11):1095–102.
245. Khot UN. Prevalence of Conventional Risk Factors in Patients With Coronary Heart Disease. *JAMA.* 2003 Aug 20;290(7):898.
246. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *N Engl J Med.* 2000 Mar 23;342(12):836–43.
247. Tuñón, Jose; MARTÍN-Ventura, Jose Luis; Blanco-Colio, Luis; Almeida, Pedro; Egido J. No Title. In: Egido, Jesús; Tuñón, José; López Bescós L, editor. *Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica.* Madrid: Línea de Comunicación; 2004. p. 91–101.
248. Hackam DG, Anand SS. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence. *JAMA.* 2003 Aug 20;290(7):932–40.
249. Mortensen RF. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res.* 2001 Jan;24(2):163–76.
250. Gómez-Gerique JA. No Title. In: Egido, Jesús; Tuñón, José; López Bescós L, editor. *Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica.* Línea de C. Madrid; 2004. p. 77–89.
251. Koenig W. C-Reactive protein and cardiovascular risk: has the time come for screening the general population? *Clin Chem.* 2001 Jan;47(1):9–10.
252. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC.

- Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Mar 9;332(10):635–41.
253. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol.* 1996 Sep 15;144(6):537–47.
254. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation.* 1998 Feb 10;97(5):425–8.
255. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation.* 1998 May 26;97(20):2007–11.
256. Rebuszi AG, Quaranta G, Liuzzo G, Caligiuri G, Lanza GA, Gallimore JR, et al. Incremental prognostic value of serum levels of troponin T and C-reactive protein on admission in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 1998 Sep 15;82(6):715–9.
257. Suleiman M, Aronson D, Reisner SA, Kapeliovich MR, Markiewicz W, Levy Y, et al. Admission C-reactive protein levels and 30-day mortality in patients with acute myocardial infarction. *Am J Med.* 2003 Dec 15;115(9):695–701.
258. Buckley DI, Fu R, Freeman M, Rogers K, Helfand M. C-reactive protein as a risk factor for coronary heart disease: a systematic review and meta-analyses for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2009 Oct 6;151(7):483–95.
259. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Dec 14;56(25):e50-103.
260. Jonathan Emberson, Derrick Bennett, Emma Link, Sarah Parish, John Danesh, Jane Armitage, et al. C-reactive protein concentration and the

- vascular benefits of statin therapy: an analysis of 20,536 patients in the Heart Protection Study. *Lancet* (London, England). 2011 Feb 5;377(9764):469–76.
261. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease. *N Engl J Med*. 2004 Apr 1;350(14):1387–97.
 262. de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM, et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003 Feb 11;107(5):690–5.
 263. Tuñón J, Blanco-Colio L, Cristóbal C, Tarín N, Higuera J, Huelmos A, et al. Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2014 Feb;113(3):434–40.
 264. Wang TJ. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation*. 2011 Feb 8;123(5):551–65.
 265. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH, et al. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2001 Oct 4;345(14):1014–21.
 266. James SK, Lindahl B, Siegbahn A, Stridsberg M, Venge P, Armstrong P, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (. *Circulation*. 2003 Jul 22;108(3):275–81.
 267. Morrow DA, de Lemos JA, Blazing MA, Sabatine MS, Murphy SA, Jarolim P, et al. Prognostic value of serial B-type natriuretic peptide testing during follow-up of patients with unstable coronary artery disease. *JAMA*. 2005 Dec 14;294(22):2866–71.

268. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Murphy SA, Demopoulos LA, DiBattiste PM, et al. Evaluation of B-type natriuretic peptide for risk assessment in unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction: B-type natriuretic peptide and prognosis in TACTICS-TIMI 18. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Apr 16;41(8):1264–72.
269. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storror AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2007 Apr 3;115(13):e356-75.
270. Bibbins-Domingo K, Gupta R, Na B, Wu AHB, Schiller NB, Whooley MA. N-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiovascular events, and mortality in patients with stable coronary heart disease. *JAMA*. 2007 Jan 10;297(2):169–76.
271. Kragelund C, Grønning B, Køber L, Hildebrandt P, Steffensen R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2005 Feb 17;352(7):666–75.
272. Blankenberg S, McQueen MJ, Smieja M, Pogue J, Balion C, Lonn E, et al. Comparative impact of multiple biomarkers and N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in the context of conventional risk factors for the prediction of recurrent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation*. 2006 Jul 18;114(3):201–8.
273. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med*. 2004 Feb 12;350(7):655–63.
274. Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA*. 2005 Apr 6;293(13):1609–16.
275. Melander O, Newton-Cheh C, Almgren P, Hedblad B, Berglund G, Engström G, et al. Novel and conventional biomarkers for prediction of incident cardiovascular events in the community. *JAMA*. 2009 Jul

- 1;302(1):49–57.
276. Tuñón J, Higuera J, Tarín N, Cristóbal C, Lorenzo Ó, Blanco-Colio L, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide Is Associated with a Future Diagnosis of Cancer in Patients with Coronary Artery Disease. *PLoS One*. 2015 Jan;10(6):e0126741.
 277. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*. 1998 Oct;78(4):1193–231.
 278. Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol*. 1990 Sep;19(3):559–63.
 279. Syal SK, Kapoor A, Bhatia E, Sinha A, Kumar S, Tewari S, et al. Vitamin D deficiency, coronary artery disease, and endothelial dysfunction: observations from a coronary angiographic study in Indian patients. *J Invasive Cardiol*. 2012 Aug;24(8):385–9.
 280. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet (London, England)*. 2010 Jul 17;376(9736):180–8.
 281. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, et al. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation*. 1997 Sep 16;96(6):1755–60.
 282. Lavie CJ, Lee JH, Milani R V. Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol*. 2011 Oct 4;58(15):1547–56.
 283. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*. 2012 Jan;92(1):131–55.
 284. Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, Ketteler M, et al. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann Intern Med*. 2010 May 18;152(10):640–8.
 285. Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Sep;21(9):1427–35.
 286. Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casas ML, Huelmos

- A, et al. Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. *PLoS One*. 2014 Jan;9(4):e95402.
287. Ogawa R, Echizen H. Drug-drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Clin Pharmacokinet*. 2010 Aug;49(8):509–33.
 288. Guda NM, Noonan M, Kreiner MJ, Partington S, Vakil N. Use of intravenous proton pump inhibitors in community practice: an explanation for the shortage? *Am J Gastroenterol*. 2004 Jul;99(7):1233–7.
 289. Leontiadis GI, Sharma VK, Howden CW. Proton pump inhibitor treatment for acute peptic ulcer bleeding. *Cochrane database Syst Rev*. 2006 Jan;(1):CD002094.
 290. Ford AC, Delaney BC, Forman D, Moayyedi P. Eradication therapy for peptic ulcer disease in *Helicobacter pylori* positive patients. *Cochrane database Syst Rev*. 2006 Jan;(2):CD003840.
 291. Madanick RD. Proton pump inhibitor side effects and drug interactions: much ado about nothing? *Cleve Clin J Med*. 2011 Jan;78(1):39–49.
 292. Ng F-H, Wong S-Y, Lam K-F, Chu W-M, Chan P, Ling Y-H, et al. Famotidine is inferior to pantoprazole in preventing recurrence of aspirin-related peptic ulcers or erosions. *Gastroenterology*. 2010 Jan;138(1):82–8.
 293. Garner A, Fadlallah H, Parsons ME. 1976 and all that!--20 years of antisecretory therapy. *Gut*. 1996 Dec;39(6):784–6.
 294. Parente F, Cucino C, Gallus S, Bargiggia S, Greco S, Pastore L, et al. Hospital use of acid-suppressive medications and its fall-out on prescribing in general practice: a 1-month survey. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003 Jun 15;17(12):1503–6.
 295. Grant K, Al-Adhami N, Tordoff J, Livesey J, Barbezat G, Reith D. Continuation of proton pump inhibitors from hospital to community. *Pharm World Sci*. 2006 Aug;28(4):189–93.
 296. Tantry US, Kereiakes DJ, Gurbel PA. Clopidogrel and proton pump inhibitors: influence of pharmacological interactions on clinical outcomes and mechanistic explanations. *JACC Cardiovasc Interv*. 2011 Apr;4(4):365–80.
 297. España Barrio, Elena; Batlle López EL-BL. No Title. In: Egido, Jesús;

- Tuñón, José; López-Bescós L, editor. Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica. 1ª. Madrid: Línea de Comunicación; 2004. p. 103–18.
298. Juul-Möller S, Edvardsson N, Jahnmatz B, Rosén A, Sørensen S, Omblus R. Double-blind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with stable chronic angina pectoris. The Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial (SAPAT) Group. *Lancet* (London, England). 1992 Dec 12;340(8833):1421–5.
 299. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömmström-Lundqvist C, Borger MA, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2012 Oct;33(20):2569–619.
 300. Bhatt DL, Scheiman J, Abraham NS, Antman EM, Chan FKL, Furberg CD, et al. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Oct 28;52(18):1502–17.
 301. Scheiman JM. NSAIDs, gastrointestinal injury, and cytoprotection. *Gastroenterol Clin North Am*. 1996 Jun;25(2):279–98.
 302. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, et al. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Scien. *Circulation*. 2002 Jul 16;106(3):388–91.
 303. Hayden M, Pignone M, Phillips C, Mulrow C. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2002 Jan 15;136(2):161–72.
 304. Chan FKL, Graham DY. Review article: prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug gastrointestinal complications--review and recommendations based on risk assessment. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004 May 15;19(10):1051–61.

305. Weil J, Colin-Jones D, Langman M, Lawson D, Logan R, Murphy M, et al. Prophylactic aspirin and risk of peptic ulcer bleeding. *BMJ*. 1995 Apr 1;310(6983):827–30.
306. Yeomans ND, Lanas AI, Talley NJ, Thomson ABR, Daneshjoo R, Eriksson B, et al. Prevalence and incidence of gastroduodenal ulcers during treatment with vascular protective doses of aspirin. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Nov 1;22(9):795–801.
307. McQuaid KR, Laine L. Systematic Review and Meta-analysis of Adverse Events of Low-dose Aspirin and Clopidogrel in Randomized Controlled Trials. *Am J Med*. 2006 Aug;119(8):624–38.
308. Sørensen HT, Møllemlkjær L, Blot WJ, Nielsen GL, Steffensen FH, McLaughlin JK, et al. Risk of upper gastrointestinal bleeding associated with use of low-dose aspirin. *Am J Gastroenterol*. 2000 Sep;95(9):2218–24.
309. Peters RJG, Mehta SR, Fox KAA, Zhao F, Lewis BS, Kopecky SL, et al. Effects of aspirin dose when used alone or in combination with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes: observations from the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) study. *Circulation*. 2003 Oct 7;108(14):1682–7.
310. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2013 Oct;34(38):2949–3003.
311. de Abajo FJ, García Rodríguez LA. Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with low-dose aspirin as plain and enteric-coated formulations. *BMC Clin Pharmacol*. 2001 Jan;1:1.
312. Kelly JP, Kaufman DW, Jurgelson JM, Sheehan J, Koff RS, Shapiro S. Risk of aspirin-associated major upper-gastrointestinal bleeding with enteric-coated or buffered product. *Lancet (London, England)*. 1996 Nov 23;348(9039):1413–6.
313. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet*

- (London, England). 1996 Nov 16;348(9038):1329–39.
314. Lanas A, García-Rodríguez LA, Arroyo MT, Gomollón F, Feu F, González-Pérez A, et al. Risk of upper gastrointestinal ulcer bleeding associated with selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors, traditional non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs, aspirin and combinations. *Gut*. 2006 Dec;55(12):1731–8.
 315. Chan FKL, Ching JYL, Hung LCT, Wong VWS, Leung VKS, Kung NNS, et al. Clopidogrel versus aspirin and esomeprazole to prevent recurrent ulcer bleeding. *N Engl J Med*. 2005 Jan 20;352(3):238–44.
 316. Jones DB, Howden CW, Burget DW, Kerr GD, Hunt RH. Acid suppression in duodenal ulcer: a meta-analysis to define optimal dosing with antisecretory drugs. *Gut*. 1987 Sep;28(9):1120–7.
 317. Taha AS, McCloskey C, Prasad R, Bezlyak V. Famotidine for the prevention of peptic ulcers and oesophagitis in patients taking low-dose aspirin (FAMOUS): a phase III, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England). 2009 Jul 11;374(9684):119–25.
 318. Laine L, Hennekens C. Proton pump inhibitor and clopidogrel interaction: fact or fiction? *Am J Gastroenterol*. 2010 Jan;105(1):34–41.
 319. Lanas A, García-Rodríguez LA, Arroyo MT, Bujanda L, Gomollón F, Forné M, et al. Effect of antisecretory drugs and nitrates on the risk of ulcer bleeding associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, and anticoagulants. *Am J Gastroenterol*. 2007 Mar;102(3):507–15.
 320. Bhatt DL, Cryer BL, Contant CF, Cohen M, Lanas A, Schnitzer TJ, et al. Clopidogrel with or without omeprazole in coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2010 Nov 11;363(20):1909–17.
 321. Lai KC, Lam SK, Chu KM, Wong BCY, Hui WM, Hu WHC, et al. Lansoprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long-term low-dose aspirin use. *N Engl J Med*. 2002 Jun 27;346(26):2033–8.
 322. Abraham NS, Hlatky MA, Antman EM, Bhatt DL, Bjorkman DJ, Clark CB, et al. ACCF/ACG/AHA 2010 expert consensus document on the concomitant use of proton pump inhibitors and thienopyridines: a focused update of the ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on

- reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID . *Am J Gastroenterol*. 2010 Dec;105(12):2533–49.
323. Ray WA, Murray KT, Griffin MR, Chung CP, Smalley WE, Hall K, et al. Outcomes with concurrent use of clopidogrel and proton-pump inhibitors: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2010 Mar 16;152(6):337–45.
324. Hernández-Díaz S, Rodríguez LA. Association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper gastrointestinal tract bleeding/perforation: an overview of epidemiologic studies published in the 1990s. *Arch Intern Med*. 2000 Jul 24;160(14):2093–9.
325. Ng F-H, Wong S-Y, Lam K-F, Chang C-M, Lau Y-K, Chu W-M, et al. Gastrointestinal bleeding in patients receiving a combination of aspirin, clopidogrel, and enoxaparin in acute coronary syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2008 Apr;103(4):865–71.
326. Nikolsky E, Mehran R, Dangas G, Fahy M, Na Y, Pocock SJ, et al. Development and validation of a prognostic risk score for major bleeding in patients undergoing percutaneous coronary intervention via the femoral approach. *Eur Heart J*. 2007 Aug;28(16):1936–45.
327. Ng F-H, Lam K-F, Wong S-Y, Chang C-M, Lau Y-K, Yuen W-C, et al. Upper gastrointestinal bleeding in patients with aspirin and clopidogrel co-therapy. *Digestion*. 2008 Jan;77(3–4):173–7.
328. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001 Aug 16;345(7):494–502.
329. Diener H-C, Bogousslavsky J, Brass LM, Cimminiello C, Csiba L, Kaste M, et al. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England). Jan;364(9431):331–7.
330. Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med*. 2006 Apr 20;354(16):1706–17.
331. Bhatt DL. Intensifying platelet inhibition--navigating between Scylla and

- Charybdis. *N Engl J Med*. 2007 Nov 15;357(20):2078–81.
332. Würtz M, Grove EL, Kristensen SD, Hvas A-M. The antiplatelet effect of aspirin is reduced by proton pump inhibitors in patients with coronary artery disease. *Heart*. 2010 Mar;96(5):368–71.
 333. Research C for DE and. Drug Safety Information for Healthcare Professionals - Information for Healthcare Professionals: Update to the labeling of Clopidogrel Bisulfate (marketed as Plavix) to alert healthcare professionals about a drug interaction with omeprazole (marketed as P. Center for Drug Evaluation and Research;
 334. Gilard M, Arnaud B, Cornily J-C, Le Gal G, Lacut K, Le Calvez G, et al. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLopidogrel Aspirin) study. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Jan 22;51(3):256–60.
 335. Giraud MN, Sanduja SK, Felder TB, Illich PA, Dial EJ, Lichtenberger LM. Effect of omeprazole on the bioavailability of unmodified and phospholipid-complexed aspirin in rats. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997 Oct;11(5):899–906.
 336. Li X-Q, Andersson TB, Ahlström M, Weidolf L. Comparison of inhibitory effects of the proton pump-inhibiting drugs omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole on human cytochrome P450 activities. *Drug Metab Dispos*. 2004 Aug;32(8):821–7.
 337. Gilard M, Arnaud B, Le Gal G, Abgrall JF, Bosch J. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated to aspirin. *J Thromb Haemost*. 2006 Nov;4(11):2508–9.
 338. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Poyet R, Gaborit B, Bali L, et al. Comparison of omeprazole and pantoprazole influence on a high 150-mg clopidogrel maintenance dose the PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) prospective randomized study. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Oct 22;54(13):1149–53.
 339. Cardoso RN, Benjo AM, DiNicolantonio JJ, Garcia DC, Macedo FYB, El-Hayek G, et al. Incidence of cardiovascular events and gastrointestinal bleeding in patients receiving clopidogrel with and without proton pump inhibitors: an updated meta-analysis. *Open Hear*. 2015 Jan;2(1):e000248.

340. Lima JP de A, Brophy JM. The potential interaction between clopidogrel and proton pump inhibitors: a systematic review. *BMC Med*. 2010 Jan;8:81.
341. Charlot M, Grove EL, Hansen PR, Olesen JB, Ahlehoff O, Selmer C, et al. Proton pump inhibitor use and risk of adverse cardiovascular events in aspirin treated patients with first time myocardial infarction: nationwide propensity score matched study. *BMJ*. 2011 Jan;342:d2690.
342. Maggio M, Corsonello A, Ceda GP, Cattabiani C, Lauretani F, Buttò V, et al. Proton pump inhibitors and risk of 1-year mortality and rehospitalization in older patients discharged from acute care hospitals. *JAMA Intern Med*. 2013 Apr 8;173(7):518–23.
343. Teramura-Grönblad M, Bell JS, Pöysti MM, Strandberg TE, Laurila J V, Tilvis RS, et al. Risk of death associated with use of PPIs in three cohorts of institutionalized older people in Finland. *J Am Med Dir Assoc*. 2012 Jun;13(5):488.e9-13.
344. Schillinger W, Teucher N, Sossalla S, Kettlewell S, Werner C, Raddatz D, et al. Negative inotropy of the gastric proton pump inhibitor pantoprazole in myocardium from humans and rabbits: evaluation of mechanisms. *Circulation*. 2007 Jul;116(1):57–66.
345. Sossalla S, Schotola H, Schmitto J, Toischer K, Sohns C, Schwörer H, et al. Effects of different proton pump inhibitors on cardiac contractility in isolated human failing myocardium. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2011 Jun;52(3):437–44.
346. Oudit GY, Bakal JA, McAlister FA, Ezekowitz JA. Use of oral proton pump inhibitors is not associated with harm in patients with chronic heart failure in an ambulatory setting. *Eur J Heart Fail*. 2011 Nov;13(11):1211–5.
347. Schillinger W, Hörnes N, Teucher N, Sossalla S, Seht D, Jung K, et al. Recent in vitro findings of negative inotropy of pantoprazole did not translate into clinically relevant effects on left ventricular function in healthy volunteers. *Clin Res Cardiol*. 2009 Jun;98(6):391–9.
348. Tanaka S, Nishigaki K, Ojio S, Okubo M, Yasuda S, Ishihara Y, et al. Can negative cardiac effect of proton pump inhibitor and high-dose H₂-blocker have clinical influence on patients with stable angina? *J Cardiol*. 2008

- Aug;52(1):39–48.
349. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486–97.
 350. Cesari M, Penninx BWJH, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation*. 2003 Nov 11;108(19):2317–22.
 351. McMurray JJ V, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart. *Eur Heart J*. 2012 Jul;33(14):1787–847.
 352. Schechter AD, Rollins BJ, Zhang YJ, Charo IF, Fallon JT, Rossikhina M, et al. Tissue factor is induced by monocyte chemoattractant protein-1 in human aortic smooth muscle and THP-1 cells. *J Biol Chem*. 1997 Nov;272(45):28568–73.
 353. Ketteler M, Wolf M, Hahn K, Ritz E. Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. *Eur Heart J*. 2013 Apr;34(15):1099–101.
 354. Van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, Brouwer IA. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J*. Mosby, Inc.; 2013;165(5):655–664.e5.
 355. Lavie CJ, Lee JH, Milani R V. Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol*. 2011 Oct;58(15):1547–56.
 356. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, Egido J. Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Dec;27 Suppl 4:iv17-21.
 357. Sonoki K, Yoshinari M, Iwase M, Iino K, Ichikawa K, Ohdo S, et al. Glycoxidized low-density lipoprotein enhances monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in human umbilical vein endothelial cells:

- Relation to lysophosphatidylcholine contents and inhibition by nitric oxide donor. *Metabolism*. 2002;51(9):1135–42.
358. Rong JX, Li J, Reis ED, Choudhury RP, Dansky HM, Elmaleh VI, et al. Elevating high-density lipoprotein cholesterol in apolipoprotein E-deficient mice remodels advanced atherosclerotic lesions by decreasing macrophage and increasing smooth muscle cell content. *Circulation*. 2001 Nov 13;104(20):2447–52.
 359. Jain SK, Micinski D. Vitamin D upregulates glutamate cysteine ligase and glutathione reductase, and GSH formation, and decreases ROS and MCP-1 and IL-8 secretion in high-glucose exposed U937 monocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. Elsevier Inc.; 2013;437(1):7–11.
 360. Pisters R, Lane DA, Nieuwlaat R, de Vos CB, Crijns HJGM, Lip GYH. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. *Chest*. 2010 Nov;138(5):1093–100.
 361. Charlot M, Ahlehoff O, Norgaard ML, Jørgensen CH, Sørensen R, Abildstrøm SZ, et al. Proton-pump inhibitors are associated with increased cardiovascular risk independent of clopidogrel use: a nationwide cohort study. *Ann Intern Med*. 2010 Sep 21;153(6):378–86.
 362. Rassen JA, Choudhry NK, Avorn J, Schneeweiss S. Cardiovascular outcomes and mortality in patients using clopidogrel with proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention or acute coronary syndrome. *Circulation*. 2009 Dec 8;120(23):2322–9.
 363. European Medicines Agency - News and Events - Public statement on possible interaction between clopidogrel and proton pump inhibitors [Internet]. [cited 2015 Aug 27]. Available from: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2009/11/news_detail_000194.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1
 364. Harjai KJ, Shenoy C, Orshaw P, Usmani S, Boura J, Mehta RH. Clinical outcomes in patients with the concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention: an analysis from the Guthrie Health Off-Label Stent (GHOST) investigators. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011 Apr 1;4(2):162–70.

365. Ho PM, Maddox TM, Wang L, Fihn SD, Jesse RL, Peterson ED, et al. Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA*. 2009 Mar 4;301(9):937–44.
366. Cardiovascular P, Eapci I, France JC, Germany JC, Germany CH, Head SJ, et al. 2014 ESC Guidelines on myocardial revascularization. 2014;2541–619.
367. Agewall S, Cattaneo M, Collet JP, Andreotti F, Lip GYH, Verheugt FWA, et al. Expert position paper on the use of proton pump inhibitors in patients with cardiovascular disease and antithrombotic therapy. *Eur Heart J*. 2013;34(23):1708–15.
368. Bell JS, Strandberg TE, Teramura-Gronblad M, Laurila J V, Tilvis RS, Pitkälä KH. Use of proton pump inhibitors and mortality among institutionalized older people. *Arch Intern Med*. 2010 Sep 27;170(17):1604–5.
369. Lodato F, Azzaroli F, Turco L, Mazzella N, Buonfiglioli F, Zoli M, et al. Adverse effects of proton pump inhibitors. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Apr;24(2):193–201.
370. Gulmez SE, Holm A, Frederiksen H, Jensen TG, Pedersen C, Hallas J. Use of proton pump inhibitors and the risk of community-acquired pneumonia: a population-based case-control study. *Arch Intern Med*. 2007 May 14;167(9):950–5.
371. Cunningham R, Dale B, Undy B, Gaunt N. Proton pump inhibitors as a risk factor for *Clostridium difficile* diarrhoea. *J Hosp Infect*. 2003 Jul;54(3):243–5.
372. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med*. 1994 Mar 1;120(3):211–5.
373. McCarthy DM. Adverse effects of proton pump inhibitor drugs: clues and conclusions. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010 Nov;26(6):624–31.
374. Kuipers MT, Thang HD, Arntzenius AB. Hypomagnesaemia due to use of proton pump inhibitors--a review. *Neth J Med*. 2009 May;67(5):169–72.
375. Mackay JD, Bladon PT. Hypomagnesaemia due to proton-pump inhibitor

- therapy: A clinical case series. *Qjm*. 2010;103(6):387–95.
376. Blomström-lundqvist C, Scheinman MM, Aliot EM, Alpert JS, Calkins H, Camm AJ, et al. ACC / AHA / ESC PRACTICE GUIDELINES — FULL TEXT ACC / AHA / ESC Guidelines for the Management of Patients With Supraventricular Arrhythmias * and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing. 2003.
 377. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J*. 2015;36(9):746–837.
 378. Yang Y-X, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA*. 2006 Dec 27;296(24):2947–53.
 379. Antoniou T, Macdonald EM, Hollands S, Gomes T, Mamdani MM, Garg AX, et al. Proton pump inhibitors and the risk of acute kidney injury in older patients: a population-based cohort study. *C open*. 2015;3(2):E166-71.
 380. Klepser DG, Collier DS, Cochran GL. Proton pump inhibitors and acute kidney injury: a nested case-control study. *BMC Nephrol*. *BMC Nephrology*; 2013;14(1):150.
 381. Blank M-L, Parkin L, Paul C, Herbison P. A nationwide nested case-control study indicates an increased risk of acute interstitial nephritis with proton pump inhibitor use. *Kidney Int*. Nature Publishing Group; 2014;86(4):837–44.
 382. Praga M, Gonzalez E. Acute interstitial nephritis. *Int Soc Nephrol*. 2010;77(March):956–61.
 383. Xie Y, Bowe B, Li T, Xian H, Balasubramanian S, Al-Aly Z. Proton Pump Inhibitors and Risk of Incident CKD and Progression to ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2016;1–11.
 384. Drepper MD. Clopidogrel and proton pump inhibitors - where do we stand in 2012? *World J Gastroenterol*. 2012 May 14;18(18):2161.
 385. Ishizaki T, Horai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors--emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999 Aug;13 Suppl 3:27–36.

386. Shah NH, LePendur P, Bauer-Mehren A, Ghebremariam YT, Iyer S V., Marcus J, et al. Proton pump inhibitor usage and the risk of myocardial infarction in the general population. PLoS One. 2015;10(6):1–16.

Anexo

Publicaciones derivadas de esta tesis doctoral

De esta Tesis doctoral se han derivado dos publicaciones en revistas de ámbito internacional:

1. *Differential profile in inflammatory and mineral metabolism biomarkers in patients with ischemic heart disease without classical coronary risk factors.* Pello AM, Cristóbal C, Tarín N, Huelmos A, Aceña Á, Carda R, González-Casaus ML, Alonso J, Lorenzo Ó, Blanco-Colio L, Martín-Ventura JL, Franco Peláez JA, Mahillo-Fernández I, Farré J, López-Bescós L, Egido J, Tuñón J. J Cardiol. 2015 Jul;66(1):22-7. doi: 10.1016/j.jjcc.2014.11.006.
2. *Use of proton-pump inhibitors predicts heart failure and death in patients with coronary artery disease.* Ana María Pello Lázaro, Carmen Cristóbal, Juan Antonio Franco-Peláez, Nieves Tarín, Álvaro Aceña, Rocío Carda, Ana Huelmos, María Luisa Martín-Mariscal, Jesús Fuentes-Antras, Juan Martínez-Millá, Joaquín Alonso, Óscar Lorenzo, Jesús Egido, Lorenzo López-Bescós, José Tuñón. PLoS One. 2017 Jan 12; 12(1): e0169826. doi:10.1371/ journal.pone.0169826

A continuación se incluyen ambos trabajos completos.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cardiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jjcc

Original article

Differential profile in inflammatory and mineral metabolism biomarkers in patients with ischemic heart disease without classical coronary risk factors



Ana María Pello (MD)^a, Carmen Cristóbal (MD, PhD)^{b,c}, Nieves Tarín (MD, PhD)^d, Ana Huelmos (MD, PhD)^e, Álvaro Aceña (MD)^a, Rocío Carda (MD)^a, María Luisa González-Casas (MD)^f, Joaquín Alonso (MD, PhD)^{b,c}, Óscar Lorenzo (PhD)^{g,h}, Luis Blanco-Colio (PhD)^g, José Luis Martín-Ventura (PhD)^{g,h}, Juan Antonio Franco Peláez (MD, PhD)^a, Ignacio Mahíllo-Fernández (PhD)ⁱ, Jerónimo Farré (MD, PhD)^{a,h}, Lorenzo López-Bescós (MD, PhD)^c, Jesús Egido (MD, PhD)^{g,h,j,k}, José Tuñón (MD, PhD)^{a,g,h,*}

^a Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain^b Department of Cardiology, Hospital de Fuenlabrada, Fuenlabrada, Spain^c Rey Juan Carlos University, Alcorcón, Spain^d Department of Cardiology, Hospital Universitario de Móstoles, Móstoles, Spain^e Department of Cardiology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Alcorcón, Spain^f Laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism, Hospital Gómez-Ulla, Madrid, Spain^g Laboratory of Vascular Pathology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain^h Autónoma University, Madrid, Spainⁱ Department of Epidemiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain^j Department of Nephrology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain^k CIBERDEM, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 September 2014

Received in revised form 28 October 2014

Accepted 19 November 2014

Available online 19 December 2014

Keywords:

Atherosclerosis

Cardiovascular risk factors

Biomarkers

Fibroblast growth factor-23

Monocyte chemoattractant protein-1

ABSTRACT

Background: Patients with coronary heart disease (CHD) without classical cardiovascular risk factors (CRFs) are uncommon, and their profile has not been thoroughly studied. In CHD patients, we have assessed the differences in several biomarkers between those with and without CRF.

Methods: We studied 704 patients with CHD, analyzing plasma levels of biomarkers related to inflammation, thrombosis, renal damage, and heart failure: high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), galectin-3, N-terminal fragment of brain natriuretic peptide (NT-pro-BNP), calcidiol (vitamin D metabolite), fibroblast growth factor-23 (FGF-23), parathormone, and phosphate. **Results:** Twenty patients (2.8%) exhibited no CRFs. Clinical variables were well balanced in both groups, with the logical exceptions of no use of antidiabetic drugs, lower triglyceride and glucose, and higher high-density lipoprotein cholesterol in no-CRF patients.

No-CRF patients showed lower hs-CRP (2.574 ± 3.120 vs. 4.554 ± 9.786 mg/L; $p = 0.018$), MCP-1 (114.75 ± 36.29 vs. 143.56 ± 65.37 pg/ml; $p = 0.003$), and FGF-23 (79.28 ± 40.22 vs. 105.17 ± 156.61 RU/ml; $p = 0.024$), and higher calcidiol (23.66 ± 9.12 vs. 19.49 ± 8.18 ng/ml; $p = 0.025$) levels. At follow-up, 10.0% vs. 11.0% patients experienced acute ischemic event, heart failure, or death in the non-CRF and CRF groups, respectively ($p = 0.815$, log-rank test). The limited number of non-CRF patients may have influenced this finding. A Cox regression analysis in the whole population showed that high calcidiol, and low MCP-1 and FGF-23 plasma levels are associated with a better prognosis.

Conclusions: CHD patients without CRFs show a favorable biomarker profile in terms of inflammation and mineral metabolism. Further studies are needed to investigate whether this difference translates into a better prognosis.

© 2014 Japanese College of Cardiology. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

* Corresponding author at: Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Avenida Reyes Católicos 2, 28040 Madrid, Spain. Tel.: +34 91550480 Ext 3701; fax: +34 915504904.

E-mail address: jtunon@secardiologia.es (J. Tuñón).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jjcc.2014.11.006>

0914-5087/© 2014 Japanese College of Cardiology. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

The importance of cardiovascular risk factors (CRFs) in the development of coronary heart disease (CHD) is well established, and it is widely recognized that they must be controlled in order to halt the progression of the disorder [1]. However, some patients with CHD do not present with classical CRFs. Although these patients are managed similarly to patients who have CRFs, they sometimes show differences as compared to those with CRFs. Despite this, less attention has been paid to this subgroup.

In recent years there has been a growing interest in the role of prognostic biomarkers in atherothrombosis. It has been shown that increased levels of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), galectin-3, and N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP) are related to an adverse prognosis [2–8]. More recently, plasma levels of the components of mineral metabolism, such as vitamin D, fibroblast growth factor-23 (FGF-23), parathormone, and phosphate have also been related to cardiovascular disorders [9–12].

We have investigated whether CHD patients who do not have CRFs present a more favorable profile of prognostic biomarkers related to atherothrombosis. We divided a population of 704 patients with CHD into those with and without CRFs. These patients were examined according to a panel of biomarkers related to inflammation, thrombosis, renal damage, and heart failure: hs-CRP, MCP-1, galectin-3, and NT-pro-BNP [2–8]. In addition, we determined the levels of the components of mineral metabolism in the patients' plasma: calcidiol (a metabolite of vitamin D), FGF-23, parathormone, and phosphate.

Methods

Patients

The research protocol was approved by the ethics committees of the participating hospitals and all patients signed informed consent documents. The BACS & BAMi (Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction) studies included patients admitted to four hospitals in Madrid who had either non-ST elevation acute coronary syndrome or ST-elevation acute myocardial infarction, as described previously [5]. Exclusion criteria were: age over 85 years, coexistence of other significant cardiac disorders except left ventricular hypertrophy secondary to hypertension, coexistence of any illness or toxic habits that could limit patient survival, impossibility to perform revascularization when indicated, and subjects in whom follow-up was not possible. In order to limit the variability of the findings due to an excessive heterogeneity in the intervals between the acute event and blood extraction, the investigators agreed to exclude patients who were not clinically stable at day six of the index event.

In addition to plasma withdrawal at discharge, a second plasma sample was extracted between 6 and 12 months later, on an outpatient basis. This paper reports data from the clinical and analytical findings obtained during this second plasma extraction.

Between July 2006 and April 2010, 1898 patients who had experienced an acute coronary event were discharged from the participating hospitals. Of these, 838 were included in the study. The remaining patients were not included due to one of the following reasons: age over 85 years (17.3%), disorders or toxic habits limiting survival (29.0%), impossibility to perform cardiac revascularization (14.5%), coexistence of other significant cardiopathy (6.8%), impossibility to perform follow-up (12.0%), clinical instability beyond the sixth day at the index event (9.1%), refusal to participate in the study (2.0%), and impossibility of the investigators to include them (9.3%). Of the patients included, 7 died before the second

plasma extraction and 709 had available and adequate plasma samples at the time. This visit took place between January 2007 and February 2011. The patients were included in a follow-up study, with the last visits taking place in May 2012. Five patients were lost to follow-up, leaving a total of 704 patients for analysis.

Study design

The cross-sectional study was carried out during the visit performed 6–12 months after the acute coronary event. Blood was withdrawn from the patients for plasma storage and a complete set of clinical variables was recorded. Twelve-hour fasting venous blood samples were collected in ethylenediaminetetraacetate tube (EDTA). Patients were considered to present with hypertension if they had a history of systolic and/or diastolic pressure equal to or higher than 140 and 90 mmHg, respectively [13] or if they were taking blood-pressure-lowering drugs for this disorder. Patients with current or past tobacco use were considered smokers. Patients receiving lipid-lowering therapy for this diagnosis and those with fasting lipid levels (low-density lipoprotein cholesterol >160 mg/dl and/or triglyceride levels >200 mg/dl) were considered to be diagnosed with dyslipidemia [14]. Patients were considered to present a family history of atherosclerosis when a first-degree relative younger than 60 years had history of CHD, peripheral vascular disease, or cerebrovascular disease [15]. Finally, patients were considered to be diabetics if they were receiving therapy for the condition or if they had fasting glucose levels >126 mg/dl [16].

A prospective observational study was also initiated during this visit. Under the study, patients were seen every year at their hospital. At the end of follow-up (maximum 4.6 years), the patients' medical records were reviewed and patient status was confirmed by telephone contact made by a cardiologist. The outcome variable was the combination of acute thrombotic events (any acute coronary syndrome, stroke, and transient ischemic attack) plus all-cause mortality and heart failure, defined as described previously [5].

Biomarker and analytical studies

Venous blood samples were centrifuged at 2500 g for 10 min. Plasma was stored at -80°C in the biobank of IIS-Fundación Jiménez Díaz. Plasma determinations of calcidiol, FGF-23, and intact parathormone were performed at the laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism at the Gómez-Ulla hospital. The remaining determinations were carried out at the Vascular Pathology and Biochemistry Laboratories at Fundación Jiménez Díaz. The investigators who performed the laboratory studies were unaware of clinical data. Plasma calcidiol levels were quantified by chemiluminescent immunoassay (CLIA) using the LIAISON[®] XL analyzer (LIAISON 250H Vitamin D total Assay, DiaSorin, Saluggia, Italy). FGF-23 was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay that recognizes epitopes within the carboxyl-terminal portion of FGF-23 (Human FGF-23, C-Term, Immutopics Inc., San Clemente, CA, USA), intact parathormone was analyzed by a second-generation automated chemiluminescent method (Elecys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), and phosphate was determined through an enzymatic method (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics). Plasma concentrations of MCP-1 and galectin-3 were determined in duplicate using commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kits (BMS279/2 Bender MedSystems, Burlingame, CA, USA, and DCP00, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, respectively) following the manufacturers' instructions. Intra- and inter-assay coefficients of variation were 4.6% and 5.9% for MCP-1 and 6.2% and 8.3% for galectin-3, respectively. Hs-CRP was assessed by latex-enhanced

immunoturbidimetry (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Erlangen, Germany), and NT-pro-BNP was analyzed by immunoassay (VITROS, Orthoclinical Diagnostics, Raritan, NJ, USA). Lipids, glucose, and creatinine determinations were performed by standard methods (ADVIA 2400 Chemistry System).

Statistical analysis

Quantitative data that followed a normal distribution are presented as mean \pm standard deviation and compared using the Student "t" test. When normal distribution could not be assumed, median (interquartile range) and Mann–Whitney test were used. Qualitative variables are displayed as percentages and were compared by χ^2 or Fisher's exact test where appropriate. Log-rank test was used to compare time to outcome in patients without CRFs against those who had CRFs. Cox regression analysis was performed with forward, stepwise selection, to assess the predictive value of the

biomarkers studied for the development of the outcome, controlling for all the variables shown in Table 1. Analyses were performed with SPSS 19.0 (SPSS Inc., New York, NY, USA) and R 3.0.1. (<http://www.r-project.org/>).

Results

Of the 704 patients included, only 20 (2.8%) did not present any classical CRFs. Forty percent of these patients were women (Table 1). Age was similar in the non-CRF and the CRF groups, and there were no significant differences in the clinical variables between both groups, with the exception of the intake of antidiabetic drugs, which was more frequent in the CRF group (18.3% vs. 0%; $p = 0.034$). Glucose (93.7 mg/dl vs. 109.6 mg/dl; $p = 0.001$) and triglycerides (95.5 \pm 40.3 mg/dl vs. 132.1 \pm 83.6 mg/dl; $p < 0.001$) plasma levels were lower in the non-CRF group than in patients with CRFs. On the other hand, high-density lipoprotein

Table 1
Characteristics of patients with and without cardiovascular risk factors.

Characteristics	Patients without CRF (N=20)	Patients with CRF (N=684)	p-Value	Patients with CRF (N=40) ^a	p-Value ^b
Age (years)	63.45 \pm 11.92	61.35 \pm 12.28	0.450	64.58 \pm 7.75	0.704
Male sex (%)	60.0	75.7	0.118	60.0	1.000
Family history atherosclerosis (%)	20	24.7	0.795	32.5	0.375
Body Mass Index	28.13 \pm 4.09	28.73 \pm 4.54	0.557	29.07 \pm 5.6	0.511
Cerebrovascular events (%)	0.0	3.5	1.000	2.5	1.000
Previous PAD (%)	0.0	3.9	1.000	2.5	1.000
Previous CABG (%)	5.0	8.5	1.000	12.5	0.653
Atrial fibrillation	0.0	5.0	0.617	0.0	–
Ejection fraction <40% (%)	15.0	11.7	0.721	12.5	1.000
ASA (%)	100.0	91.7	0.396	90.0	0.291
Clopidogrel (%)	75.0	67.5	0.630	70.0	0.769
Acenocoumarol (%)	0.0	6.0	0.623	2.5	1.000
Statins (%)	95.0	87.4	0.495	87.5	0.653
Oral antidiabetic drugs (%)	0.0	18.3	0.034	10.0	0.291
Insulin (%)	0.0	6.6	0.632	2.5	1.000
ACEI/ARB (%)	60.0	70.6	0.325	72.5	0.384
Aldosterone receptor blockers (%)	10.0	5.7	0.327	0.0	0.107
Beta-blockers (%)	70.0	76.6	0.592	77.5	0.542
Verapamil (%)	0.0	0.4	1.000	0.0	–
Diltiazem (%)	0.0	3.4	1.000	5.0	0.548
Dihydropyridines (%)	10.0	16.8	0.554	22.5	0.307
<i>Data at the previous acute coronary event</i>					
Complete revascularization (%)	70.0	65.2	0.770	65.0	0.750
Number of vessels diseased ^c			0.439		0.230
0 (%)	10.0	9.6		10.0	
1 (%)	65.0	52.2		40.0	
2 (%)	25.0	25.1		37.5	
3 (%)	0.0	10.8		10.0	
<i>Analytical data</i>					
Total cholesterol (mg/dl)	148.5 \pm 23.7	153.3 \pm 34.5	0.536	160.7 \pm 41.8	0.156
LDL cholesterol (mg/dl)	79.15 \pm 21.34	83.27 \pm 25.77	0.479	89.90 \pm 32.17	0.182
HDL cholesterol (mg/dl)	50.25 \pm 11.69	43.63 \pm 10.81	0.007	48.45 \pm 12.68	0.597
Non-HDL cholesterol (mg/dl)	98.25 \pm 23.48	109.25 \pm 31.12	0.118	112.22 \pm 34.06	0.105
Triglycerides (mg/dl)	95.50 \pm 40.25	132.10 \pm 83.57	<0.001	111.48 \pm 43.36	0.174
Glycemia (mg/dl)	93.7 \pm 18.30	109.59 \pm 36.99	0.001	113.6 \pm 32.1	0.004
GFR (CKD-EPI) (ml/min/1.73 m ²)	74.77 \pm 14.35	75.87 \pm 19.26	0.799	71.78 \pm 17.04	0.462
Galectin-3 (ng/ml)	7.800 (5.603, 9.373)	7.785 (6.023, 9.760)	0.815	8.485 (6.623, 10.058)	0.355
HS C-reactive protein (mg/L)	2.574 \pm 3.120	4.554 \pm 9.786	0.018	3.913 \pm 5.124	0.215
Calcdiol (ng/ml)	23.66 \pm 9.12	19.49 \pm 8.18	0.025	18.67 \pm 7.06	0.023
FGF-23 (RU/ml)	79.28 \pm 40.22	105.17 \pm 156.61	0.024	86.678 \pm 29.642	0.438
MCP-1 (pg/ml)	114.75 \pm 36.29	143.56 \pm 65.37	0.003	158.322 \pm 72.665	0.003
NT-ProBNP (pg/ml)	199.5 (105.8, 269.3)	167.0 (87.6, 419.0)	0.988	203 (96.4, 464.5)	0.583
Parathormone (pg/ml)	69.45 \pm 30.96	65.52 \pm 31.92	0.587	66.226 \pm 32.436	0.714
Phosphate (mg/dl)	3.28 \pm 0.61	3.25 \pm 1.34	0.874	3.34 \pm 0.48	0.424

ASA, acetylsalicylic acid; CABG, coronary artery by-pass graft; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARB, angiotensin receptor blockers; CKD-EPI, chronic kidney disease epidemiology collaboration; CRF, cardiovascular risk factors; FGF-23, fibroblast growth factor-23; GFR, glomerular filtration rate; HS, high-sensitivity; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; NT-proBNP, N-terminal probrain natriuretic peptide; PAD, peripheral artery disease. The *p* bold values are statistically significant.

^a Group of age- and sex-matched patients with CRF.

^b Comparison between non-CRF and age- and sex-matched CRF patients.

^c 100% and 97.7% of patients underwent coronary angiography in the non-CRF and CRF groups, respectively.

(HDL)-cholesterol levels were higher in the absence of CRFs (50.3 ± 11.7 mg/dl vs. 43.6 ± 10.8 mg/dl; $p = 0.007$).

The biomarker study showed lower hs-CRP (2.574 ± 3.120 mg/L vs. 4.554 ± 9.786 mg/L; $p = 0.018$) and MCP-1 (114.75 ± 36.29 pg/ml vs. 143.56 ± 65.37 pg/ml; $p = 0.003$) plasma levels in the non-CRF as compared to the CRF group. The analysis of the components of mineral metabolism showed lower FGF-23 levels in patients without CRF as compared to those with CRFs (79.28 ± 40.22 RU/ml vs. 105.17 ± 156.61 RU/ml; $p = 0.024$). On the other hand, calcidiol plasma levels were higher in the non-CRF than in the CRF group (23.66 ± 9.12 ng/ml vs. 19.49 ± 8.18 ng/ml respectively; $p = 0.025$). No differences were found in the remaining biomarkers assessed (Table 1). Using linear regression analysis, we estimated that glycemia, HDL-cholesterol, and triglyceride plasma levels only explained 3.0% ($R^2 = 0.030$), 0.1% ($R^2 = 0.001$), 0.3% ($R^2 = 0.003$), and 6% ($R^2 = 0.062$) of the variations in hs-CRP, MCP-1, FGF-23, and calcidiol levels, respectively.

As the low number of patients without CRFs could have masked significant differences in age and gender, we carried out a new analysis comparing the non-CRF group to a control group of 40 age- and sex-matched patients with CRFs. The results of this analysis were similar to those of the overall assessment (Table 1). There were lower glucose (93.7 ± 18.3 mg/dl vs. 113.6 ± 32.1 mg/dl; $p = 0.004$) and MCP-1 (114.75 ± 36.29 pg/ml vs. 158.32 ± 72.67 pg/ml; $p = 0.003$) plasma levels in the non-CRF group. In addition, calcidiol levels were also higher in the non-CRF than in the CRF group (23.66 ± 9.12 ng/ml vs. 18.67 ± 7.06 ng/ml; $p = 0.023$). There was a trend toward a reduction in FGF-23 and hs-CRP levels in patients without CRF; this difference failed to reach statistical significance, probably due to the lower sample size of both groups in this confirmation study. Similarly, differences in the use of oral antidiabetic drugs, and in triglyceride and HDL plasma levels did not reach statistical significance.

After 2.12 (1.37–2.98) years of follow-up, 2 patients (10%) in the non-CRF group and 75 patients (10.96%) in the CRF group reached the prespecified outcome. Of the 2 patients in the non-CRF group, 1 suffered a stroke and the other developed a non-ST segment elevation myocardial infarction. In the CRF group, there were 38 non-ST segment elevation acute coronary syndromes, 4 cases of ST-segment elevation myocardial infarction, 7 strokes, 10 transiently ischemic attacks, 16 hospital admissions due to heart failure, and 22 deaths. Twelve patients developed two events and five patients experienced three events. There were no significant differences between the two groups ($p = 0.816$, log-rank test).

All variables shown in Table 1 were entered into a multivariate Cox model to investigate the predictive value of the biomarkers studied in the whole population. In this analysis, low calcidiol and high FGF-23 and MCP-1 plasma levels were independent predictors of outcome, along with age, insulin, and angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker treatment (Table 2).

Table 2
Multivariable Cox model for the incidence of the outcome.

	Hazard ratio	95% CI		p-Value
		Lower	Upper	
Age	1.054	1.030	1.078	<0.001
Insulin	2.517	1.103	5.746	0.028
ACEI/ARB	0.567	0.336	0.959	0.034
Calcidiol	0.964	0.930	0.999	0.042
MCP-1	1.311 ^a	1.072 ^a	1.604 ^a	0.008
FGF-23	1.112 ^b	1.015 ^b	1.218 ^b	0.023

CI, confidence interval; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARB, angiotensin receptor blockers; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; FGF-23, fibroblast growth factor-23.

^a Increase in hazard ratio per 100 pg/ml.

^b Increase in hazard ratio per 100 RU/ml.

Discussion

Most patients with established CHD have some classical CRF. Nonetheless, a small proportion of them are free of CRFs. However, little attention has been paid to these patients.

Only 20 out of the 704 patients (2.8%) included in our study had no CRFs. This value is lower than those reported previously [17]. The published data vary depending on the population analyzed, cut-off values used in the definition of CRFs, and age. The absence of traditional CRFs in patients with atherosclerosis is not surprising, since other CRFs may contribute to this disorder [18]. In addition, other factors such as inflammation may promote atherosclerosis [19].

Age is considered an independent CRF [1], and the proportion of patients without classical CRFs increases with age [17], as we observed in our study. Of interest, the prognostic power of classical CRFs diminishes with increasing age [20] suggesting that their role in the development of CHD may be more important in young subjects. Male gender is also correlated with higher cardiovascular risk [21], and in our population there was a higher proportion of men than women. However, we did not find significant differences in gender distribution between patients with and without CRFs, although this could be due to the small number of patients without CRFs.

Both groups showed a similar distribution of clinical variables; the only exception to this was that the CRF group contained more patients under oral antidiabetic therapy. This difference is logical as, by definition, diabetic patients could only belong to the CRF group. Although similar data could be expected to be present with regard to the use of lipid- and blood pressure-lowering drugs, this was not the case. The percentage of patients receiving treatment with statins was similar in both groups, because aggressive lipid lowering is indicated in all patients after an acute coronary event [22]. With regard to antihypertensive patients, modulators of the renin-angiotensin system are indicated in subjects with clinically evident atherosclerosis, and even more when left ventricular dysfunction is present [22]. Similarly, beta-blockers are beneficial in patients with a history of myocardial infarction [22]. Other blood pressure-lowering drugs such as diuretics may be advised in more patients in addition to those with hypertension, such as patients who have experienced heart failure. Finally, patients without CRFs had lower glycemia, higher HDL-cholesterol, and lower triglyceride plasma levels than those with CRFs, according to the criteria used to allocate them into one of the two groups.

Inflammation is an important process both in atherogenesis and plaque complications [19]. Furthermore, some inflammatory markers predict cardiovascular events even in patients without CRFs. In this regard, the ABC study showed that levels of interleukin-6 predicted CHD in elderly patients even in the absence of CRFs [20].

Hs-CRP plasma levels have been associated with an increased incidence of cardiovascular events [2,3]. In our study, patients without CRFs had lower hs-CRP levels than those with classical CRFs. Accordingly, MCP-1 plasma levels were also lower in patients without CRFs. MCP-1 is the most important chemokine involved in the atherothrombotic process, and it is vital to the recruitment of macrophages into the vessel wall [23]. It is expressed more strongly in atherosclerotic lesions than in healthy vessels [24]. Drugs with antiatherosclerotic effects, such as statins, decrease MCP-1 expression in the vascular wall [25]. Furthermore, MCP-1 also has procoagulant properties [26]. According to this evidence, increased MCP-1 plasma levels have been found to predict the development of adverse cardiovascular events in patients with acute coronary syndromes and stable CHD [4,5].

Although traditionally related to renal disease, abnormalities in mineral metabolism have been associated with cardiovascular disease more recently. When there is a decrease in renal

glomerular filtration, phosphate elimination is reduced. In order to maintain phosphate homeostasis, there is an increase in FGF-23 and parathormone plasma levels. Enhanced plasma levels of phosphate, FGF-23, and parathormone have been related to an increase in cardiovascular events through different mechanisms, including endothelial dysfunction, arterial stiffness, and left ventricular hypertrophy [9,10,12,27]. In addition, FGF-23 reduces vitamin D plasma levels [10]. This enhances cardiovascular risk even more, as low vitamin D levels are associated with endothelial dysfunction, inflammation, activation of the renin-angiotensin system, vascular smooth muscle cell proliferation, and vascular calcification, resulting in increased risk of hypertension, CHD, and stroke [11,28–31]. In our population, subjects without CRFs not only exhibited lower FGF-23 plasma levels, but also revealed increased calcidiol levels. This is especially important, since the combination of vitamin D deficit along with increased FGF-23 plasma levels seems to confer a higher cardiovascular risk [32].

It is possible that a causal relationship between the absence of classical CRFs and the more favorable biomarker profile described in this population exists. In this regard, diabetes has been associated with enhanced MCP-1 expression [33] and HDL has been shown to decrease the expression of this cytokine [34]. Furthermore, vitamin D decreases MCP-1 secretion in U937 monocytes in the presence of high glucose concentrations [35]. Finally, FGF-23 decreases synthesis and enhances catabolism of vitamin D [10]. Nevertheless, in the present paper, we have not addressed this issue, and more investigations are needed to elucidate the links between the absence of CRFs and the biomarker profile reported in this paper.

The diminution in hs-CRP, MCP-1, and FGF-23 plasma levels, along with the increase in calcidiol levels appears to correlate with a more favorable prognosis in patients without CRFs. Although this improved prognosis was not confirmed in our population, this could be due to the low number of patients who had no CRFs. Given the low percentage of CHD patients without CRFs, confirmation of a better prognosis would require a large sample size.

However, we show that in our whole population low calcidiol and high MCP-1 and FGF-23 plasma levels were independent predictors of the outcome, suggesting that the biomarker profile on non-CRF patients may be related with a more favorable prognosis.

This work has some limitations. (1) Excluding patients with clinical instability in the first days after the index event could have introduced a certain bias, because these patients would probably have had a worse prognosis, and could have also a different distribution of CRFs. (2) The low number of patients without CRF in our population could have limited the statistical power in the prognosis assessment. This suggests that large sample sizes of patients with CHD must be examined in order to reach more sound conclusions with regard to potential differences in the prognosis of both groups. (3) We have not assessed these biomarkers in the acute phase of the study as, at the time of the acute event, the population was not homogeneous as there were patients with both ST-elevation and non-ST elevation acute coronary syndromes. Then, plasma analysis at this time would imply mixing patients with two different clinical pictures. (4) Finally, it must be emphasized that we have published previously Cox regression analyses in this population to explore separately the predictive power of MCP-1 [5] and that of calcidiol and FGF-23 plasma levels [32]. In the present paper, we have reanalyzed these biomarkers together to support the hypothesis that the biomarker profile of non-CRF patients may be associated with a more favorable prognosis.

In conclusion, patients with CHD who do not present with CRFs display lower plasma levels of inflammatory biomarkers and a better profile in the mineral metabolism than those with CRFs. These findings could be related to a better prognosis, although we

could not confirm this difference given the low number of subjects without CRFs found in our population. Further studies in large numbers of CHD patients are needed in order to confirm this hypothesis.

Funding

This work was supported by grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI05/0451, PI05/1497, PI05/52475, PI05/1043, PS09/01405, PI10/00072, and PI14/01567); Spanish Society of Cardiology; Spanish Heart Foundation; Spanish Society of Arteriosclerosis; RECAVA (RD06/0014/0035); Fundación Lilly; Instituto de Salud Carlos III FEDER (FJD Biobank: RD09/0076/00101); and AbbVie Laboratories.

Conflict of interest

J. Egido is a lecturer for AbbVie Laboratories. The remaining authors have no conflicts of interest.

Acknowledgements

We acknowledge Oliver Shaw (IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain) for his assistance in editing this work. The following persons participated in this study, in blood extraction, plasma isolation, biobank organization, or occasional patient recruitment: *IIS-Fundación Jiménez Díaz*: Pedro Almeida, MD, PhD, Javier Higuera, MD, Rosario De Nicolás Miguel, LT, Dolores Asensio, MD, Pilar Jiménez Caballero, RN, Marta Hernán Bru, RN, Esmeralda Serrano Blázquez, RN, Ana Encinas Pastor, RN, Arantxa Garcíandia, RN, Consuelo Ceballos Jiménez, RN, Belén Arribas Moreno, RN, Belén Picatoste, BSc, Elisa Ramírez-Bustillo, BSc; *Hospital de Fuenlabrada*: María Pacheco Delgado, MD, Rosa Jiménez Hernández, MD, José M. Serrano Antolín, MD, Alejandro Curcio Ruigómez, MD, Pedro Talavera Calle, MD, and Catherine Graupner Abad, MD. *Hospital de Móstoles*: José M. Hernández-Riesco, MD, María del Carmen García-García, PhD, Mercedes García-Rodrigo, RN, José Luis Alonso-Guillén, RN, Patricia Cuenca-Gómez, RN. *Hospital Fundación Alcorcón*: Noelia Aragón Díaz, RN.

References

- [1] Ridker PM, Libby P. Risk markers for atherothrombotic disease. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, editors. Braunwald's heart disease. A textbook in cardiovascular medicine. 9th ed., Philadelphia: Elsevier; 2012. p. 914–34.
- [2] Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:2007–11.
- [3] Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836–43.
- [4] de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, Gibson CM, Antman EM, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:690–5.
- [5] Tuñón J, Blanco-Colio L, Cristóbal C, Tarín N, Higuera J, Huelmos A, Alonso J, Egido J, Asensio D, Lorenzo O, Mahillo-Fernández I, Rodríguez-Artalejo F, Farré J, Martín-Ventura JL, López-Bescós L. Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2014;113:434–40.
- [6] Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, Thompson A, Gudnason V, Sattar N, Danesh J. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation* 2009;120:2177–87.
- [7] Lok DJ, Van Der Meer P, de la Porte PW, Lipsic E, Van Wijngaarden J, Hillege HL, van Veldhuisen DJ. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol* 2010;99:323–8.
- [8] Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta* 2006;1760:616–35.
- [9] Ketteler M, Wolf M, Hahn K, Ritz E. Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. *Eur Heart J* 2013;34:1099–101.

- [10] Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1427–35.
- [11] Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1547–56.
- [12] van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, Brouwer IA. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J* 2013;165:655–64.
- [13] Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Gifkova R, De Baer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2013;34:2159–219.
- [14] Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486–97.
- [15] Otaki Y, Gransar H, Berman DS, Cheng VY, Dey D, Lin FY, Achenbach S, Al-Mallah M, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang HJ, Chinnaiyan K, Chow BJ, Delago A, et al. Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am J Cardiol* 2013;111:1081–6.
- [16] Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, Deaton C, Escaned J, Hammes HP, Huikuri H, Marre M, Marx N, Mellbin L, Ostergren J, Patrono C, et al. ESC guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J* 2013;34:3035–87.
- [17] Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, Ellis SG, Lincoff AM, Topol EJ. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:898–904.
- [18] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937–52.
- [19] Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–26.
- [20] Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the health ABC study. *Circulation* 2003;108:2317–22.
- [21] Dawber TR, Moore FE, Mann GV. Coronary heart disease in the Framingham study. *Am J Public Health Nations Health* 1957;47:4–24.
- [22] Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, Bugiardini R, Crea F, Cuisset T, Di Mario C, Ferreira JR, Gersh BJ, Gitt AK, Hulot JS, Marx N, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013;34:2949–3003.
- [23] Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, Ishibashi M, Hiasa K, Nishida K, Takeshita A. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2002;106:2700–6.
- [24] Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 1991;88:1121–7.
- [25] Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Pérez F, Díaz C, Hernández G, Egido J. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:2057–64.
- [26] Schecter AD, Rollins BJ, Zhang YJ, Charo IF, Fallon JT, Rossikhina M, Giesen PL, Nemerson Y, Taubman MB. Tissue factor is induced by monocyte chemoattractant protein-1 in human aortic smooth muscle and THP-1 cells. *J Biol Chem* 1997;272:28568–73.
- [27] Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, Ketteler M, Shlipak MG, Whooley MA, Ix JH. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann Intern Med* 2010;152:640–8.
- [28] Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol* 1990;19:559–63.
- [29] Syal SK, Kapoor A, Bhatia E, Sinha A, Kumar S, Tewari S, Garg N, Goel PK. Vitamin D deficiency, coronary artery disease, and endothelial dysfunction: observations from a coronary angiographic study in Indian patients. *J Invasive Cardiol* 2012;24:385–9.
- [30] Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, Demer LL. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 1997;96:1755–60.
- [31] Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, Egido J. Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:17–21.
- [32] Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casaus ML, Huelmos A, Alonso J, Lorenzo Ó, González-Parra E, Mahillo-Fernández I, Pello AM, Carda R, Farré J, Rodríguez-Artalejo F, López-Bescós L, et al. Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. *PLOS ONE* 2014;9:e95402.
- [33] Sonoki K, Yoshinari M, Iwase M, Iino K, Ichikawa K, Ohdo S, Higuchi S, Iida M. Glycosylated low-density lipoprotein enhances monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in human umbilical vein endothelial cells: relation to lysophosphatidylcholine contents and inhibition by nitric oxide donor. *Metabolism* 2002;51:1135–42.
- [34] Rong JX, Li J, Reis ED, Choudhury RP, Dansky HM, Elmaleh VI, Fallon JT, Breslow JL, Fisher EA. Elevating high-density lipoprotein cholesterol in apolipoprotein E-deficient mice remodels advanced atherosclerotic lesions by decreasing macrophage and increasing smooth muscle cell content. *Circulation* 2001;104:2447–52.
- [35] Jain SK, Micinski D. Vitamin D upregulates glutamate cysteine ligase and glutathione reductase, and GSH formation, and decreases ROS and MCP-1 and IL-8 secretion in high-glucose exposed U937 monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;437:7–11.

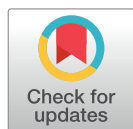
RESEARCH ARTICLE

Use of Proton-Pump Inhibitors Predicts Heart Failure and Death in Patients with Coronary Artery Disease

Ana María Pello Lázaro^{1*}, Carmen Cristóbal^{2,3}, Juan Antonio Franco-Peláez¹, Nieves Tarín⁴, Álvaro Aceña¹, Rocío Carda¹, Ana Huelmos⁵, María Luisa Martín-Mariscal¹, Jesús Fuentes-Antras¹, Juan Martínez-Millá¹, Joaquín Alonso^{3,6}, Óscar Lorenzo^{7,8}, Jesús Egido^{7,8,9}, Lorenzo López-Bescós³, José Tuñón^{1,7,8}

1 Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **2** Department of Cardiology, Hospital de Fuenlabrada, Madrid, Spain, **3** Rey Juan Carlos University, Alcorcón, Madrid, Spain, **4** Department of Cardiology, Hospital Universitario de Móstoles, Madrid, Spain, **5** Department of Cardiology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain, **6** Department of Cardiology, Hospital de Getafe, Madrid, Spain, **7** Autónoma University, Madrid, Spain, **8** Laboratory of Vascular Pathology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **9** CIBERDEM, Madrid, Spain

* ampello@fjd.es



OPEN ACCESS

Citation: Pello Lázaro AM, Cristóbal C, Franco-Peláez JA, Tarín N, Aceña Á, Carda R, et al. (2017) Use of Proton-Pump Inhibitors Predicts Heart Failure and Death in Patients with Coronary Artery Disease. PLoS ONE 12(1): e0169826. doi:10.1371/journal.pone.0169826

Editor: Raffaele Bugiardini, University of Bologna, ITALY

Received: June 9, 2016

Accepted: December 22, 2016

Published: January 19, 2017

Copyright: © 2017 Pello Lázaro et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias [grant numbers PI 14/1567, PI13/00047, PIE13/00051], ISCIII-RETIC REDinREN RD12/0021, Comunidad de Madrid [sGEN/0247/2006, S2010/BMD-2378], Spanish Society of Cardiology; Spanish Heart Foundation; RECAVA [grant number RD06/0014/0035]; Instituto de Salud Carlos III FEDER [FJD]

Abstract

Objectives

Proton-pump inhibitors (PPIs) seem to increase the incidence of cardiovascular events in patients with coronary artery disease (CAD), mainly in those using clopidogrel. We analysed the impact of PPIs on the prognosis of patients with stable CAD.

Methods

We followed 706 patients with CAD. Primary outcome was the combination of secondary outcomes. Secondary outcomes were 1) acute ischaemic events (any acute coronary syndrome, stroke, or transient ischaemic attack) and 2) heart failure (HF) or death.

Results

Patients on PPIs were older [62.0 (53.0–73.0) vs. 58.0 (50.0–70.0) years; $p = 0.003$] and had a more frequent history of stroke (4.9% vs. 1.1%; $p = 0.004$) than those from the non-PPI group, and presented no differences in any other clinical variable, including cardiovascular risk factors, ejection fraction, and therapy with aspirin and clopidogrel. Follow-up was 2.2 ± 0.99 years. Seventy-eight patients met the primary outcome, 53 developed acute ischaemic events, and 33 HF or death. PPI use was an independent predictor of the primary outcome [hazard ratio (HR) = 2.281 (1.244–4.183); $p = 0.008$], along with hypertension, body-mass index, glomerular filtration rate, atrial fibrillation, and nitrate use. PPI use was also an independent predictor of HF/death [HR = 5.713 (1.628–20.043); $p = 0.007$], but not of acute ischaemic events. A propensity score showed similar results.

biobank grant number RD09/0076/00101]. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Conclusions

In patients with CAD, PPI use is independently associated with an increased incidence of HF and death but not with a high rate of acute ischaemic events. Further studies are needed to confirm these findings.

Introduction

The efficacy of proton-pump inhibitors (PPIs) in suppressing gastric acid secretion has led them to be preferred over other drugs such as histamine H₂ receptor antagonists [1].

In patients with coronary artery disease (CAD), aspirin is used to decrease the incidence of cardiovascular events, and in patients who have undergone stent placement or have suffered an acute coronary syndrome, a P₂Y₁₂ receptor blocker such as clopidogrel is added. These antiplatelet agents, however, may favour the development of gastrointestinal (GI) complications. Prolonged aspirin therapy is associated with GI ulceration and bleeding, which have been attributed to mucosal injury caused by inhibition of prostaglandin and to systemic inhibition of thromboxane A₂ production, respectively. In addition, clopidogrel may impair the healing of gastric erosions, exacerbating GI complications associated with the concomitant administration of aspirin [2].

PPIs are indicated in CAD patients to decrease the risk of upper GI haemorrhage due to antiplatelet therapy [3]. However, patients treated with PPIs may develop osteoporosis-related fractures [4], pneumonia, *Clostridium difficile* infection, acute interstitial nephritis, and micronutrient deficiencies [5,6]. In addition, it has been suggested that PPIs may increase the incidence of cardiovascular events in CAD patients by decreasing the effect of aspirin—and, mainly, clopidogrel—on platelet aggregation [7–11]. Although several pharmacodynamic studies have suggested an interaction between PPIs and antiplatelet drugs [12], clinical studies have shown divergent results [13,14].

In this study we assessed the potential association between the use of PPIs and adverse outcome in patients with stable CAD who had developed an acute coronary syndrome 6–12 months before.

Materials and Methods

Patients

The research protocol complies with the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics committees of the participating hospitals. All patients included in the study signed informed consent documents. As described in detail previously, the BACS & BAMi (Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction) studies included patients admitted to 4 hospitals in Madrid with either non-ST elevation acute coronary syndrome (NSTEMACS) or ST elevation myocardial infarction (STEMI) [15]. Detailed inclusion and exclusion criteria have been previously reported [15,16]. Patients were seen on an outpatient basis 6 months after initial diagnosis. At this time plasma was withdrawn and a complete set of clinical variables was recorded. At this outpatient visit we started a prospective follow-up relating the clinical and analytical findings obtained with the outcome of the patients.

Between July 2006 and April 2010, 1,898 patients were discharged from the study hospitals with a diagnosis of NSTEMACS or STEMI [15]. Of these, 838 were eventually included in the

study [15]. The remaining patients were not included based on the following exclusion criteria, that have been described previously [15,16]: age over 85 years (17.3%), disorders limiting survival (29.0%), impossibility to perform cardiac revascularisation (14.5%), coexistence of other significant cardiac disorders (6.8%), impossibility to perform follow-up (12.0%), clinical instability beyond the sixth day at the index event (9.1%), refusal to participate in the study (2.0%), and impossibility of the investigators to include them (9.3%). Of the 838 patients included during the acute event, 711 attended the outpatient visit at 6 months and had adequate plasma samples stored. This visit took place between January 2007 and February 2011. Final follow-up visits took place in May 2012. Five patients were lost to follow-up, leaving a total of 706 patients for analysis.

Study Design

As explained previously, at baseline, clinical variables were recorded and twelve-hour fasting venous blood samples were withdrawn and collected in EDTA. Blood samples were centrifuged at 2,500 g for 10 minutes and plasma was stored at -80°C . Patients were seen every year at their hospital. At the end of follow-up (maximum 4.6 years) medical records were reviewed and patient status was confirmed by telephone contact.

The primary outcome was the composite of the secondary end points. The secondary outcomes were 1) recurrence of acute ischaemic events such as NSTEMI, STEMI, stroke, or transient ischaemic attack, and 2) incidence of heart failure (HF) or death from any cause. NSTEMI was defined as rest angina lasting more than 20 minutes in the previous 24 hours or new-onset class III-IV angina, along with transient ST-segment depression or T-wave inversion in the electrocardiogram considered diagnostic by the attending cardiologist and/or troponin elevation. STEMI was defined as symptoms compatible with angina lasting more than 20 minutes and ST elevation in 2 adjacent leads in the electrocardiogram without response to nitroglycerin, and troponin elevation. Stroke was defined as rapid onset of a persistent neurologic deficit attributable to a focal vascular cause and lasting more than 24 hours, supported in most cases by imaging studies. A transient ischaemic attack was defined as a stroke with signs and symptoms resolving before 24 hours without acute ischaemic lesions as assessed by imaging studies. The HF end point was assigned to patients hospitalised for this reason. Events were adjudicated by 2 investigators. Cerebrovascular events were adjudicated with the assistance of a neurologist.

Analytical Studies

Laboratory analyses were carried out in the Clinical Biochemistry Laboratory of the IIS-Fundación Jiménez Díaz by investigators who were unaware of the clinical data. As in previous papers studying this population, high-sensitivity C-reactive protein was determined by latex-enhanced immunoturbidimetry (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany) [15]. Lipid, glucose, and creatinine determinations were carried out by standard methods (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany) [15].

Statistical Analysis

Quantitative data following a normal distribution are presented as mean \pm standard deviation and compared using the Student "t" test. Data that were not normally distributed are displayed as median (interquartile range) and compared using the Mann-Whitney test. Qualitative variables are displayed as percentages and were compared by χ^2 or Fisher exact test when appropriate. Kaplan-Meier curves and the log-rank test were used to compare time to outcome according to therapy with PPIs. Cox proportional hazards modelling was used with forward

stepwise selection to assess the variables associated with the primary and secondary outcomes. In model 1, clinical and analytical variables were studied: age, sex, diabetes, smoking status, hypertension, body-mass index, LDL, HDL, triglycerides, previous history of peripheral artery disease, cerebrovascular events, atrial fibrillation or coronary artery by-pass graft; ejection fraction <40%, glomerular filtration rate assessed as Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method (CKD-EPI), high-sensitivity C-reactive protein, type of last acute coronary event, number of diseased vessels, percutaneous or surgical revascularisation, use of drug-eluting stents and existence of complete revascularisation at that event. In model 2, treatment with PPIs and other therapies were added: aspirin, clopidogrel, statins, acenocumarol, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, betablockers, nitrates/nitroglycerin and diuretics. We considered significant when “*p*” value was lower than 0.05 (two-tailed). Analyses were carried out with SPSS 19.0 (SPSS Inc., New York).

A propensity score adjustment was performed using a multivariable logistic regression model in 2 steps, including clinical variables in the first one and adding the therapies used in the second step.

Summary of the Study

In conclusion, in this study we have followed 706 patients with chronic CAD, assessing the potential relationship of PPI use with the development of acute ischaemic events, heart failure (HF), or death.

Results

Mean follow-up was 2.2 ± 0.99 years. Time from the previous acute coronary event was 7.5 ± 3.0 months.

Of the 706 patients analysed, 431 (61.04%) were receiving PPIs. Most of them (405 patients, (57.4%)) were taking omeprazole, 19 (2.7%) pantoprazole, 6 (0.8%) lansoprazole, and 1 patient (0.1%) was taking rabeprazole. There were 72 (10.2%) patients treated with histamine H_2 receptor antagonists, and the remaining patients did not receive gastric protectors. Patients receiving these drugs were older and had a more frequent history of cerebrovascular events than those not receiving them. No differences were observed in cardiovascular therapy or any other clinical or analytical variables (Table 1).

Seventy-eight patients developed the primary outcome of acute ischaemic events, HF, or death. Sixty-three (14.61%) patients taking PPIs and 15 (5.45%) not on PPIs met this outcome. Twelve patients developed 2 events, 5 patients experienced 3 events and, the remainder, one event with a total of 100 events. At multivariable analysis we included the variables displayed in Table 1 in two models, as described in the Methods section. PPI use was an independent predictor of the primary outcome, along with hypertension, age, body-mass index, estimated glomerular filtration rate, atrial fibrillation, and nitrate use (Table 2). The interaction between PPIs and clopidogrel did not reach statistical significance ($p = 0.463$).

When multivariable Cox regression analysis was performed comparing patients with omeprazole with those not taking this drug (then including 26 patients using other PPIs in this group) omeprazole was an independent risk predictor (HR 2.343 [1.320–4.158]; $p = 0.004$) along with hypertension (HR 2.591 [1.262–5.321]; $p = 0.010$), body-mass index (HR 1.060 [1.006–1.116]; $p = 0.028$), atrial fibrillation (HR 2.561 [1.372–4.781]; $p = 0.003$), glomerular filtration rate (HR 0.975 [0.963–0.987]; $p < 0.001$), and use of nitrates (HR 2.678 [1.626–4.404]; $p < 0.001$). Comparing patients with omeprazole with the remaining cases not on PPIs confirmed that omeprazole (HR 2.371 [1.290–4.358]; $p = 0.005$) was an independent predictor of the primary outcome along with the same other described variables. Given that the number of

Table 1. Characteristics of patients with and without treatment with proton-pump inhibitors.

	Patients receiving PPIs (N = 431)	Patients not receiving PPIs (N = 275)	P Value
Age, y	62.0 (53.0–73.0)	58.0 (50.0–70.0)	0.003
Male sex (%)	74.5	76.4	0.593
Caucasian (%)	97.9	95.6	0.110
Body-mass index (Kg/m ²)	28.7±4.4	28.8±4.7	0.861
Diabetes (%)	22.7	24.0	0.715
Present smoker (%)	5.6	8.0	0.213
Hypertension (%)	66.8	62.5	0.257
Peripheral artery disease (%)	3.9	3.6	1.000
Cerebrovascular events (%)	4.9	1.1	0.004
Previous CABG (%)	9.3	6.9	0.329
Atrial fibrillation (%)	3.5	1.6	0.381
Ejection fraction < 40% (%)	11.8	12.0	0.725
MEDICAL THERAPY			
Aspirin (%)	91.4	92.7	0.573
Clopidogrel (%)	66.8	69.1	0.564
Acenocoumarol (%)	6.7	5.1	0.423
Statins (%)	87.5	87.6	1.000
ACEI (%)	55.9	54.2	0.698
ARB (%)	17.4	14.9	0.406
Betablockers (%)	74.2	79.6	0.103
Nitrates/Nitroglycerin (%)	17.2	16.7	0.918
Diuretics (%)	21.8	16.0	0.064
DATA FROM LAST ACUTE CORONARY EVENT			
STEMI/NSTEACS (%)	39.9/60.1	36.7/63.3	0.428
Number of vessels diseased	1.39±0.79	1.35±0.83	0.517
Complete revascularisation (%)	6.3	4.7	0.410
Drug-eluting stent (%)	44.5	50.9	0.105
PCI (%)	74.0	73.5	0.930
CABG (%)	6.3	4.7	0.384
ANALYTICAL DATA			
LDL cholesterol (mg/dl)	84.3±26.4	81.4±24.3	0.149
HDL cholesterol (mg/dl)	43.7±10.6	44.1±11.4	0.683
Triglycerides (mg/dl)	129.7±71.3	132.7±98.3	0.640
GFR (ml/min/1.73 m ²)	75.7±21.7	76.5±18.6	0.600
HS C-reactive protein (mg/L)	4.66±10.39	4.24±8.38	0.569

ACEI: angiotensin-converting enzyme inhibitors; **ACS:** acute coronary syndrome; **ARB:** angiotensin receptor blockers; **CABG:** coronary artery by-pass graft; **GFR:** glomerular filtration rate (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method); **HDL:** high-density lipoprotein; **HS:** high-sensitivity; **LDL:** low-density lipoprotein; **NSTEACS:** Non-ST elevation acute coronary syndrome; **PCI:** percutaneous coronary intervention; **PPIs:** Proton-Pump Inhibitors; **STEMI:** ST-elevation myocardial infarction

doi:10.1371/journal.pone.0169826.t001

cases on anti-H2 and without gastric protectors was very low it was not possible to perform other comparisons.

Fifty-three patients developed acute ischaemic events. Forty-two (9.74%) of the patients on PPIs and 11 (4%) of those not receiving these drugs met this end point. There were 4 episodes of STEMI, 22 of NSTEACS, 17 of unstable angina, 8 strokes, and 10 transient ischaemic attacks. Four patients experienced 2 events and 2 patients experienced 3 events. By

Table 2. Cox proportional hazards model for the incidence of primary outcome: acute ischaemic events, heart failure, or death.

	Model 1				Model 2			
	Hazard Ratio	95% CI		P value	Hazard Ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper			Lower	Upper	
Hypertension	2.271	1.106	4.665	0.025	2.529	1.232	5.195	0.011
Atrial fibrillation	2.102	1.111	3.977	0.022	2.598	1.390	4.854	0.003
Age^a	1.036	1.008	1.064	0.011	---	---	---	---
BMI^b	1.074	1.020	1.131	0.007	1.060	1.006	1.116	0.029
CKD-EPI^c	0.982	0.967	0.997	0.021	0.974	0.962	0.987	<0.001
Nitrates	---	---	---	---	2.669	1.626	4.378	<0.001
PPIs	---	---	---	---	2.281	1.244	4.183	0.008

Model 1: Risk adjusted for age, sex, diabetes, smoking status, hypertension, body-mass index, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, and triglyceride plasma levels; previous history of peripheral artery disease, cerebrovascular events, atrial fibrillation or coronary artery by-pass graft; ejection fraction <40%, glomerular filtration rate assessed as Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method, high-sensitivity C-reactive protein; type of last acute coronary event, number of diseased vessels, percutaneous or surgical revascularisation, use of drug-eluting stents and existence of complete revascularisation at that event.

Model 2: Risk adjusted for factors in model 1 plus therapy with proton-pump inhibitors, aspirin, clopidogrel, statins, acenocoumarol, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, betablockers, diuretics and nitrates/nitroglycerin.

BMI: body-mass index; **CI:** confidence interval; **CKD-EPI:** glomerular filtration rate assessed according to the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method; **PPIs:** proton-pump inhibitors.

^a: hazard ratio estimated by every increase of 1 year.

^b: hazard ratio estimated by every increase of 1 kg/m².

^c: hazard ratio estimated by every increase of 1 ml/min/1.73m²

doi:10.1371/journal.pone.0169826.t002

multivariable analysis, age, body-mass index, and treatment with nitrates, but not with PPIs, were independent predictors of this end point (Table 3).

Thirty-three patients developed HF or death. This end point was met by 28 patients (6.49%) on PPIs, and by 5 patients (1.81%) not receiving this therapy. There were 16 episodes of HF and 23 deaths, with 6 patients experiencing 2 events. Nine deaths were due to cardiovascular causes (3 of them were sudden death) and 4 were due to malignancies. Infection, renal failure, bowel ischaemia, GI bleeding, and pancreatitis accounted for 1 death each. Five deaths were of unknown cause. Therapy with PPIs was also an independent predictor of this outcome (Table 4).

Table 3. Cox proportional hazards model for the incidence of acute ischaemic events.

	Model 1				Model 2			
	Hazard ratio	95% CI		P value	Hazard ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper			Lower	Upper	
Age^a	1.045	1.015	1.065	<0.001	1.042	1.017	1.068	0.001
BMI^b	1.105	1.044	1.169	0.001	1.105	1.045	1.169	0.001
Nitrates	---	---	---	---	1.882	1.005	3.525	0.048

Models 1 and 2 as described in Table 2

BMI: body-mass Index; **CI:** confidence interval

^a: Hazard ratio estimated by every increase of 1 year.

^b: Hazard ratio estimated by every increase of 1 kg/m².

doi:10.1371/journal.pone.0169826.t003

Table 4. Cox proportional hazards model for the incidence of heart failure or death.

	Model 1				Model 2			
	Hazard ratio	95% CI		P value	Hazard ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper			Lower	Upper	
Atrial fibrillation	3.531	1.508	8.270	0.004	6.884	2.788	16.999	<0.001
Diabetes	0.607	0.416	0.885	0.010	---	---	---	---
Age ^a	1.062	1.011	1.115	0.016	---	---	---	---
CKD-EPI ^b	0.958	0.933	0.983	0.001	0.951	0.932	0.971	<0.001
Previous PCI	1.522	1.040	2.227	0.031	---	---	---	---
Hypertension	---	---	---	---	6.443	0.852	48.696	0.071*
Nitrates	---	---	---	---	4.554	2.135	9.713	<0.001
PPIs	---	---	---	---	5.713	1.628	20.043	0.007
Peripheral artery disease	---	---	---	---	0.466	0.250	0.869	0.016
LDL	---	---	---	---	0.983	0.966	1.000	0.045

Models 1 and 2 as described in Table 2

CI: confidence interval; CKD-EPI: glomerular filtration rate assessed as Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration method; LDL: low-density lipoprotein; PCI: percutaneous coronary intervention; PPIs: proton-pump inhibitors

* Although this P value failed to reach statistical significance, this variable was maintained in the model because the P value calculated with the likelihood ratio method was 0.015

^a: Hazard ratio estimated by every increase of 1 year.

^b: Hazard ratio estimated by every increase of 1 ml/min/1.73m²

doi:10.1371/journal.pone.0169826.t004

Kaplan-Meier curves showed that patients on PPIs developed more often the primary outcome ($p = 0.013$; log-rank test) (Fig 1A) and a borderline “ p ” value ($p = 0.050$) for the secondary outcome of heart failure or death (Fig 1B).

Finally, we performed a propensity score analysis. In the first step, we included clinical variables, and treatment with PPIs significantly increased the incidence of the primary outcome (HR = 1.912, [95% CI = 1.037–3.523]; $p = 0.028$). The combined outcome of HF or death showed a result in the limit of statistical significance (HR = 2.921, [95% CI = 0.867–9.840]; $p = 0.050$). In the second step, we added concomitant drug therapy, showing that PPI treatment increased the incidence of the primary outcome (HR = 1.938, 95% CI = 1.050 to 3.576, $p = 0.025$), although the combination of HF or death lost the statistical significance (HR = 2.767, 95% CI = 0.817 to 9.373, $p = 0.066$).

Discussion

It has been suggested that treatment with PPIs are associated with an increased incidence of cardiovascular events in patients with CAD, mainly in those receiving clopidogrel [14].

In the present study, PPI treatment in patients with CAD was associated with a significant increase in the incidence of HF or death. The distribution of clinical and analytical variables across patients taking PPIs was similar to that of patients not taking these drugs, though with 2 exceptions. First, patients on PPIs were older. This is logical, since age is a risk factor for GI bleeding [17]. Second, patients receiving PPIs had a more frequent history of cerebrovascular events. Although the rate of anticoagulation in these patients was slightly higher than in those not on PPIs, this difference did not reach statistical significance. Moreover, these factors were included in a multivariable analysis, and PPI treatment remained an independent predictor of adverse events. The only exception was the fully adjusted propensity score for the development

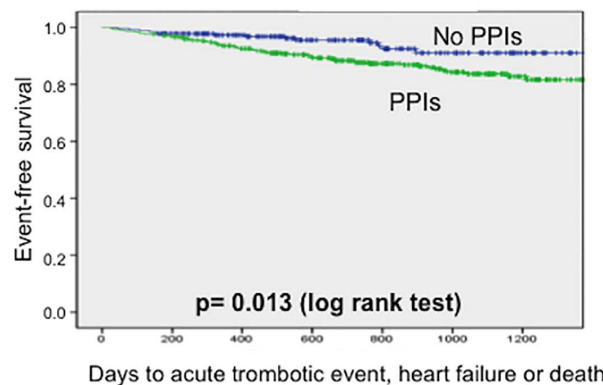
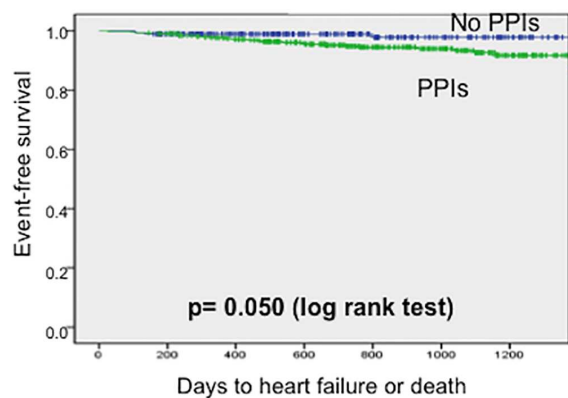
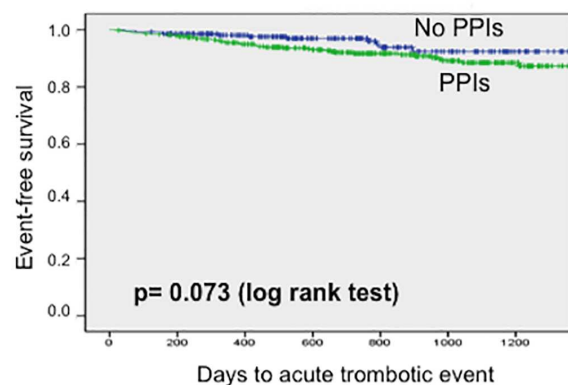
A Acute thrombotic events, heart failure, or death**B Heart failure or death****C Acute thrombotic events**

Fig 1. Kaplan-Meier curves showing time to the outcomes in patients with or without PPIs. (A) Time to primary outcome (acute ischaemic events, heart failure or death). (B) Time to heart failure or death. (C) Time to acute ischaemic events.

doi:10.1371/journal.pone.0169826.g001

of HF or death, which lost significance, likely due to the limited number of patients presenting this outcome.

More than 90% of patients were taking aspirin. Chronic treatment with aspirin is a risk factor for GI bleeding regardless of the dose used [18]. Furthermore, two-thirds of the patients were treated also with clopidogrel, and no differences were observed between the PPI and non-PPI groups for this variable. Of interest, no significant interaction was found between clopidogrel use and the association of PPI administration with the primary outcome. Moreover, none of our patients was taking prasugrel or ticagrelor, since at the time this investigation was performed only clopidogrel was available in the participating hospitals.

The present work shows that PPI use is an independent predictor of HF or death. Although there are no previous studies reporting this association, it is known that pantoprazole may exert negative inotropic effects on isolated myocardium from humans and rabbits [19]. This effect was dose-dependent and partially reversible. PPIs decrease gastric acid secretion by blocking the gastric acid pump H^+/K^+ -adenosine triphosphatase (ATPase). This pump is also present in the myocardium of rats [20]. Inhibition of H^+/K^+ ATPase might therefore induce cellular acidosis and a secondary depression in myocardial contractility. However, this was not the mechanism of action of pantoprazole, as no significant changes in intracellular pH could be detected, and all effects occurred at pH 7.3–7.4. Two underlying mechanisms for the pantoprazole-dependent inhibition of contractile force have been described [19]: (1) a decrease in the amplitude of Ca^{2+} transients due to an impaired sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and diminished Ca^{2+} influx via I_{CaL} , and (2) reduced Ca^{2+} responsiveness of the myofilaments as a consequence of decreased maximal active tension and mildly lower Ca^{2+} sensitivity. Similar results have been obtained with esomeprazole [19] and omeprazole [21], suggesting a class effect.

Although the findings from laboratory studies have been promising, there is controversy regarding the clinical effects of PPIs on myocardial function. Using echocardiography, Schilling *et al* did not observe any effect of high doses of intravenous pantoprazole on left ventricular ejection fraction or several hemodynamic parameters in healthy volunteers [22]. On the other hand, Tanaka *et al* showed that chronic administration of PPIs in patients with stable angina could be associated with a decrease in ejection fraction and an increase in end-systolic volume index [23].

The increase in mortality associated with PPI use described in the present paper is consistent with previous data. The use of high doses of PPIs has been associated with increased mortality in 491 older patients discharged from acute care hospitals, even when multivariable analysis including predictors of adverse outcomes was carried out [5]. Similarly, PPI use was independently associated with all-cause mortality in 2 cohorts of older patients in long-term care hospitals, acute geriatric wards, and nursing homes [5,24]. Similar results were seen in patients discharged from acute care hospitals [25].

Several potential mechanisms have been suggested to explain the relationship between PPIs and the risk of death [26]. First, the suppression of gastric acidity and the alteration in gut bacterial flora may be the cause of the higher prevalence of *Clostridium difficile* infections and community-acquired pneumonia described in long-term PPI users [5,27,28]. Second, PPI use may cause vitamin B₁₂ deficiency, thus leading to a poor nutritional status [29]. In fact, abolishing acid production may interfere with the absorption of nutrients, enhancing the risk of malnutrition [30]. Third, the U.S. Food and Drug Administration reported in 2011 that prescription of PPI drugs for prolonged periods could cause hypomagnesaemia. The mechanism responsible is unknown but may be associated with changes in intestinal absorption of magnesium. Hypomagnesaemia also produces impaired parathyroid hormone secretion, which may lead to hypocalcaemia. Furthermore, as the intracellular concentration of magnesium is

involved in the regulation of potassium channels, low magnesium levels may lead to urinary potassium excretion and subsequent hypokalaemia [31,32]. Then, these electrolyte disturbances could cause both supraventricular and ventricular arrhythmias with cardiac arrest or death [33,34]. Nevertheless, future investigations with larger populations are needed to at least confirm a relationship between PPI use and the occurrence of sudden death. Finally, a higher risk of bone fractures has been described in older people taking PPIs [35]. Although the cause of death was available in our patients, the number of specific events for each cause was too small to obtain a reliable estimate of the association between the use of PPIs and each specific cause of death.

In contrast to our data, Oudit *et al* found that PPI use was not associated with all-cause mortality in a cohort of 22,107 patients over age 65 with HF [36]. However, they had a different profile from that of our study, including older age, more comorbidities, and higher mortality.

Use of PPIs was not an independent predictor of acute ischaemic events. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies suggest that use of PPIs may reduce the antiplatelet effects of clopidogrel. The strongest evidence for such an interaction has been found between omeprazole and clopidogrel [37,38]. Ho *et al* reported an increased incidence of hospitalisation for acute coronary syndromes or death in patients with acute coronary syndrome receiving clopidogrel and PPIs [14]. However, recent retrospective studies including propensity score matching have not confirmed these data [39]. In addition, the only randomised double-blinded trial available compared omeprazole and placebo in 3,873 patients with indication for dual antiplatelet therapy, and did not find more adverse cardiovascular events in the PPI group [3]. However, this trial was terminated before schedule and the number of events was lower than expected. In our study there were no differences in the use of aspirin and clopidogrel in PPIs users vs. non-users. What is more, treatment with clopidogrel did not affect the association between therapy with PPIs and the incidence of the primary outcome. It therefore seems reasonable to conclude that PPIs had no effect on the incidence of acute ischaemic events and that clopidogrel use did not affect the association observed with the primary outcome.

Finally, we were unable to explore whether adverse prognosis was associated with all PPIs or only with omeprazol, given that the number of patients with other PPIs was low. Similarly, our study did not allow us to analyse whether the adverse effect of PPIs was evident only when comparing these patients to those taking antiH₂ or, alternatively, if this effect was also present when comparing PPI patients with those receiving no gastric protectors. The reason for this is that, in accordance with the current clinical practice, the number of patients without any gastric protector was very low.

This work has certain limitations. First, this is a non-randomised study with some significant differences at baseline between patients receiving PPI and those who did not. Although we included these variables in the multivariate and propensity score analysis, the small sample size may have limited the statistical power. Second, excluding patients with clinical instability in the first days after the index event may have introduced a bias, as these patients would probably have evidenced a worse prognosis. Nevertheless, only 9 percent of cases were excluded for this reason and the remaining exclusion criteria were designed to prevent the inclusion of cases that could have yielded confounding information, such as patients with major additional disorders. Third, the number of total events was small, thus limiting the strength of the statistical analysis. Fourth, there were few deaths, making it impossible to test whether there was an association between use of PPIs and some specific cause of death. Fifth, the study quality is modest, as more than 50% of patients discharged from the hospitals with a diagnosis of NSTEMI or STEMI were not included in the study based on the exclusion criteria described in the Methods section. Finally, adherence to medication regimens during follow-up was not addressed.

Conclusions

In conclusion, our results suggest an association between use of PPIs and the incidence of death or HF but do not point to an association with incidence of acute ischaemic events. More studies are needed to confirm these data.

Supporting Information

S1 File. The database of the data availability.
(XLSX)

Acknowledgments

We are indebted to Oliver Shaw for his assistance in editing this manuscript in English.

Author Contributions

Conceptualization: AMPL JA JE LLB JT NT.

Data curation: JAFP JT.

Formal analysis: AMPL JT JAFP.

Funding acquisition: JT NT LLB CC.

Investigation: AMPL CC NT AA RC AH MLMM JFA JMM OL.

Methodology: JT JAFP CC JA OL LLB AA.

Project administration: JT NT LLB CC.

Supervision: OL JE LLB JT.

Writing – original draft: AMPL JT.

Writing – review & editing: CC JAFP NT AA RC AH MLMM JFA JMM JA OL JE LLB.

References

1. Ng F-H, Wong S-Y, Lam K-F, Chu W-M, Chan P, Ling Y-H, et al. Famotidine is inferior to pantoprazole in preventing recurrence of aspirin-related peptic ulcers or erosions. *Gastroenterology*. 2010 Jan; 138(1):82–8. doi: [10.1053/j.gastro.2009.09.063](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.063) PMID: [19837071](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19837071/)
2. Tantry US, Kereiakes DJ, Gurbel PA. Clopidogrel and proton pump inhibitors: influence of pharmacological interactions on clinical outcomes and mechanistic explanations. *JACC Cardiovasc Interv*. 2011 Apr; 4(4):365–80. doi: [10.1016/j.jcin.2010.12.009](https://doi.org/10.1016/j.jcin.2010.12.009) PMID: [21511216](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21511216/)
3. Bhatt DL, Cryer BL, Contant CF, Cohen M, Lanas A, Schnitzer TJ, et al. Clopidogrel with or without omeprazole in coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2010 Nov 11; 363(20):1909–17. doi: [10.1056/NEJMoa1007964](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1007964) PMID: [20925534](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20925534/)
4. Research C for DE and. Postmarket Drug Safety Information for Patients and Providers—FDA Drug Safety Communication: Possible increased risk of fractures of the hip, wrist, and spine with the use of proton pump inhibitors. Center for Drug Evaluation and Research;
5. Maggio M, Corsonello A, Ceda GP, Cattabiani C, Lauretani F, Buttò V, et al. Proton pump inhibitors and risk of 1-year mortality and rehospitalization in older patients discharged from acute care hospitals. *JAMA Intern Med*. 2013 Apr 8; 173(7):518–23. doi: [10.1001/jamainternmed.2013.2851](https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2013.2851) PMID: [23460307](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23460307/)
6. Madanick RD. Proton pump inhibitor side effects and drug interactions: much ado about nothing? *Cleve Clin J Med*. 2011 Jan; 78(1):39–49. doi: [10.3949/ccjm.77a.10087](https://doi.org/10.3949/ccjm.77a.10087) PMID: [21199906](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21199906/)
7. Charlot M, Ahlehoff O, Norgaard ML, Jørgensen CH, Sørensen R, Abildstrøm SZ, et al. Proton-pump inhibitors are associated with increased cardiovascular risk independent of clopidogrel use: a

- nationwide cohort study. *Ann Intern Med*. 2010 Sep; 153(6):378–86. doi: [10.7326/0003-4819-153-6-201009210-00005](https://doi.org/10.7326/0003-4819-153-6-201009210-00005) PMID: 20855802
8. Ray WA, Murray KT, Griffin MR, Chung CP, Smalley WE, Hall K, et al. Outcomes with concurrent use of clopidogrel and proton-pump inhibitors: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2010 Mar; 152(6):337–45. doi: [10.7326/0003-4819-152-6-201003160-00003](https://doi.org/10.7326/0003-4819-152-6-201003160-00003) PMID: 20231564
 9. Rassen JA, Choudhry NK, Avorn J, Schneeweiss S. Cardiovascular outcomes and mortality in patients using clopidogrel with proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention or acute coronary syndrome. *Circulation*. 2009 Dec; 120(23):2322–9. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.109.873497](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.873497) PMID: 19933932
 10. Gilard M, Arnaud B, Cornily J-C, Le Gal G, Lacut K, Le Calvez G, et al. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLOpidogrel Aspirin) study. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Jan 22; 51(3):256–60. doi: [10.1016/j.jacc.2007.06.064](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.06.064) PMID: 18206732
 11. Research C for DE and. Drug Safety Information for Healthcare Professionals—Information for Healthcare Professionals: Update to the labeling of Clopidogrel Bisulfate (marketed as Plavix) to alert healthcare professionals about a drug interaction with omeprazole (marketed as P. Center for Drug Evaluation and Research;
 12. Giraud MN, Sanduja SK, Felder TB, Illich PA, Dial EJ, Lichtenberger LM. Effect of omeprazole on the bioavailability of unmodified and phospholipid-complexed aspirin in rats. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997 Oct; 11(5):899–906. PMID: 9354198
 13. Harjai KJ, Shenoy C, Orshaw P, Usmani S, Boura J, Mehta RH. Clinical outcomes in patients with the concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention: an analysis from the Guthrie Health Off-Label Stent (GHOST) investigators. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011 Apr 1; 4(2):162–70. doi: [10.1161/CIRCINTERVENTIONS.110.958884](https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.110.958884) PMID: 21386091
 14. Ho PM, Maddox TM, Wang L, Fihn SD, Jesse RL, Peterson ED, et al. Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA*. 2009 Mar 4; 301(9):937–44. doi: [10.1001/jama.2009.261](https://doi.org/10.1001/jama.2009.261) PMID: 19258584
 15. Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casas ML, Huelmos A, et al. Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. *PLoS One*. 2014 Jan; 9(4):e95402. doi: [10.1371/journal.pone.0095402](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095402) PMID: 24748388
 16. Tuñón J, Blanco-Colio L, Cristóbal C, Tarín N, Higuera J, Huelmos A, et al. Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2014 Feb; 113(3):434–40. doi: [10.1016/j.amjcard.2013.10.012](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2013.10.012) PMID: 24295549
 17. Pisters R, Lane DA, Nieuwlaar R, de Vos CB, Crijns HJGM, Lip GYH. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. *Chest*. 2010 Nov; 138(5):1093–100. doi: [10.1378/chest.10-0134](https://doi.org/10.1378/chest.10-0134) PMID: 20299623
 18. Abraham NS, Hlatky MA, Antman EM, Bhatt DL, Bjorkman DJ, Clark CB, et al. ACCF/ACG/AHA 2010 expert consensus document on the concomitant use of proton pump inhibitors and thienopyridines: a focused update of the ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID. *Am J Gastroenterol*. 2010 Dec; 105(12):2533–49. doi: [10.1038/ajg.2010.445](https://doi.org/10.1038/ajg.2010.445) PMID: 21131924
 19. Schillinger W, Teucher N, Sossalla S, Kettlewell S, Werner C, Raddatz D, et al. Negative inotropy of the gastric proton pump inhibitor pantoprazole in myocardium from humans and rabbits: evaluation of mechanisms. *Circulation*. 2007 Jul; 116(1):57–66. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.106.666008](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.666008) PMID: 17576869
 20. Beisvag V, Falck G, Loennechen JP, Qvigstad G, Jynge P, Skomedal T, et al. Identification and regulation of the gastric H⁺/K⁺-ATPase in the rat heart. *Acta Physiol Scand*. 2003 Nov; 179(3):251–62. doi: [10.1046/j.0001-6772.2003.01191.x](https://doi.org/10.1046/j.0001-6772.2003.01191.x) PMID: 14616241
 21. Sossalla S, Schotola H, Schmitto J, Toischer K, Sohns C, Schwörer H, et al. Effects of different proton pump inhibitors on cardiac contractility in isolated human failing myocardium. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2011 Jun; 52(3):437–44.
 22. Schillinger W, Hörnes N, Teucher N, Sossalla S, Seher D, Jung K, et al. Recent in vitro findings of negative inotropy of pantoprazole did not translate into clinically relevant effects on left ventricular function in healthy volunteers. *Clin Res Cardiol*. 2009 Jun; 98(6):391–9. doi: [10.1007/s00392-009-0012-6](https://doi.org/10.1007/s00392-009-0012-6) PMID: 19301059
 23. Tanaka S, Nishigaki K, Ojio S, Okubo M, Yasuda S, Ishihara Y, et al. Can negative cardiac effect of proton pump inhibitor and high-dose H2-blocker have clinical influence on patients with stable angina? *J Cardiol*. 2008 Aug; 52(1):39–48. doi: [10.1016/j.jjcc.2008.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2008.05.004) PMID: 18639776

24. Teramura-Grönblad M, Bell JS, Pöysti MM, Strandberg TE, Laurila J V, Tilvis RS, et al. Risk of death associated with use of PPIs in three cohorts of institutionalized older people in Finland. *J Am Med Dir Assoc*. 2012 Jun; 13(5):488.e9–13.
25. Bell JS, Strandberg TE, Teramura-Grönblad M, Laurila J V, Tilvis RS, Pitkälä KH. Use of proton pump inhibitors and mortality among institutionalized older people. *Arch Intern Med*. 2010 Sep 27; 170(17):1604–5. doi: [10.1001/archinternmed.2010.304](https://doi.org/10.1001/archinternmed.2010.304) PMID: [20876414](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20876414/)
26. Lodato F, Azzaroli F, Turco L, Mazzella N, Buonfiglioli F, Zoli M, et al. Adverse effects of proton pump inhibitors. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Apr; 24(2):193–201. doi: [10.1016/j.bpg.2009.11.004](https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.11.004) PMID: [20227032](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20227032/)
27. Gulmez SE, Holm A, Frederiksen H, Jensen TG, Pedersen C, Hallas J. Use of proton pump inhibitors and the risk of community-acquired pneumonia: a population-based case-control study. *Arch Intern Med*. 2007 May 14; 167(9):950–5. doi: [10.1001/archinte.167.9.950](https://doi.org/10.1001/archinte.167.9.950) PMID: [17502537](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17502537/)
28. Cunningham R, Dale B, Undy B, Gaunt N. Proton pump inhibitors as a risk factor for *Clostridium difficile* diarrhoea. *J Hosp Infect*. 2003 Jul; 54(3):243–5. PMID: [12855243](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12855243/)
29. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med*. 1994 Mar 1; 120(3):211–5. PMID: [8273984](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8273984/)
30. McCarthy DM. Adverse effects of proton pump inhibitor drugs: clues and conclusions. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010 Nov; 26(6):624–31. doi: [10.1097/MOG.0b013e32833ea9d9](https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32833ea9d9) PMID: [20802330](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802330/)
31. Kuipers MT, Thang HD, Amtzenius AB. Hypomagnesaemia due to use of proton pump inhibitors—a review. *Neth J Med*. 2009 May; 67(5):169–72. PMID: [19581665](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19581665/)
32. Mackay JD, Bladon PT. Hypomagnesaemia due to proton-pump inhibitor therapy: A clinical case series. *Qjm*. 2010; 103(6):387–95. doi: [10.1093/qjmed/hcq021](https://doi.org/10.1093/qjmed/hcq021) PMID: [20378675](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20378675/)
33. Blomström-lundqvist C, Scheinman MM, Aliot EM, Alpert JS, Calkins H, Camm AJ, et al. ACC / AHA / ESC PRACTICE GUIDELINES—FULL TEXT ACC / AHA / ESC Guidelines for the Management of Patients With Supraventricular Arrhythmias * and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing. 2003.
34. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J*. 2015; 8(9):746–837.
35. Yang Y-X, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA*. 2006 Dec 27; 296(24):2947–53. doi: [10.1001/jama.296.24.2947](https://doi.org/10.1001/jama.296.24.2947) PMID: [17190895](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17190895/)
36. Oudit GY, Bakal JA, McAlister FA, Ezekowitz JA. Use of oral proton pump inhibitors is not associated with harm in patients with chronic heart failure in an ambulatory setting. *Eur J Heart Fail*. 2011 Nov; 13(11):1211–5. doi: [10.1093/eurjhf/hfr104](https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfr104) PMID: [21831912](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21831912/)
37. Drepper MD. Clopidogrel and proton pump inhibitors—where do we stand in 2012? *World J Gastroenterol*. 2012 May 14; 18(18):2161. doi: [10.3748/wjg.v18.i18.2161](https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i18.2161) PMID: [22611308](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22611308/)
38. Ishizaki T, Horai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors—emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999 Aug; 13 Suppl 3:27–36.
39. Rassen JA, Choudhry NK, Avorn J, Schneeweiss S. Cardiovascular outcomes and mortality in patients using clopidogrel with proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention or acute coronary syndrome. *Circulation*. 2009 Dec 8; 120(23):2322–9. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.109.873497](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.873497) PMID: [19933932](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19933932/)